

Aus der Kinderklinik C der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. J. Bremer)

PHARMAKOKINETIK DES PHENYLALANINS

von

KONRAD BECKER

Als Habilitationsschrift vorgelegt

der

Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

Düsseldorf 1980

Aus der Kinderklinik C der Universität Düsseldorf

(Direktor: Prof. Dr. H. J. Bremer)

Pharmakokinetik des Phenylalanins

von

Konrad Becker

Als Habilitationsschrift vorgelegt

der

Hohen Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

Düsseldorf 1980

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
1.1. Homöostase des Phenylalanins	1
1.1.1. Plasmakonzentrationsverlauf nach Resorption	4
1.2. Utilisation	5
1.2.1. Leberaufnahme	5
1.2.2. Transport vom extrazellulären in den intrazellulären Raum	6
1.2.3. Proteinsynthese	12
1.2.4. Intrazelluläre Kompartimente, pools	14
1.2.5. Phenylalaninabbau	14
1.3. Phenylalanin-Gleichgewicht im Plasma	22
1.3.1. Werte für Normalpersonen	22
1.3.2. Erhöhte Konzentration bei gestörter Utilisation	25
1.3.3. Phenylalaninverwertung	28
1.4. Pharmakokinetik	29
1.4.1. Fließgleichgewicht	29
1.4.2. Elimination 1. Ordnung	32
1.4.3. Kompartiment	36
1.4.4. Invasion	44
1.4.5. Exzeß-Kurve	46
1.4.6. Eliminationskapazität	47
1.5. Pharmakokinetik des Phenylalanins und anderer Aminosäuren	49
1.5.1. Phenylalaninbelastung	49

	Seite
1.5.2. Kinetik markierter Aminosäuren	53
1.6. Phenylalanin-Belastungstests	56
2. PROBLEMSTELLUNG	59
3. METHODIK	60
3.1. Vorbemerkung zur Phenylalaninbestimmung im Plasma	60
3.1.1. Phenylalaninbestimmung im Plasma	60
3.1.2. Eichung des Gerätes	64
3.1.3. Aufarbeitung der Proben zur Analyse und Berechnung der Phenylalaninkonzentration	67
3.2. Herstellung der zur intravenösen Infusion verwendeten L-Phenylalaninlösung	69
3.3. Versuchsanordnung	69
3.3.1. Vorversuche	69
3.3.2. Auswahl der Probanden	73
3.3.3. Versuchsablauf	74
3.4. Versuche	75
3.4.1. Versuchsansatz I	75
3.4.2. Versuchsansatz II	76
3.4.3. Versuchsansatz III	77
3.4.4. Versuchsansatz IV	78
3.4.5. Versuchsansatz V	78
3.4.6. Probanden	79
3.5. Berechnung der pharmakokinetischen Parameter	80
3.5.1. Monoexponentieller Konzentrationsabfall	80
3.5.2. Anpassung der Daten an pharmakokinetische Modelle	82
3.5.3. Pharmakokinetische Parameter	86

	Seite
3.5.4. Sättigungskinetik	89
3.6. Statistik	91
4. ERGEBNISSE	93
4.1. Präzision der Phenylalaninbe- stimmung im Plasma	93
4.2. Das pharmakokinetische Modell des Phenylalanin-Konzentrations- verlaufs	95
4.3. Auswertung der pharmakokinetischen Parameter	101
4.3.1. Vergleich der Anpassung an ein 2-Kompartimentmodell und 1-Kompar- timentmodell	101
4.3.2. Vergleich der Phenylalanin-Nüchtern- werte	105
4.3.3. Phenylalanin-Kurzinfusion bei Normalpersonen	105
4.3.4. Phenylalanin-Kurzinfusion mit ver- schiedensten Dosen bei Normalpersonen	107
4.3.5. Phenylalanin-Kurzinfusion bei Phenylketonurie-Heterozygoten	111
4.3.6. Phenylalaninlangzeitinfusion bei Normalpersonen	112
4.3.7. Phenylalaninkurzinfusion bei Normal- personen während eines künstlich er- höhten Phenylalaninspiegels	114
4.3.8. Phenylalaninkurzinfusion bei Phenyl- ketonurie-Heterozygoten während eines künstlich erhöhten Phenylalanin- spiegels	119
4.3.9. Langdauernde Phenylalanininfusion mit zwei verschiedenen Dosen	123

	Seite
4.4.	Sättigungskinetik 126
4.5.	Ausscheidung des infundierten L-Phenylalanins im Urin 128
5.	DISKUSSION 129
5.1.	Das pharmakokinetische Modell 131
5.2.	Mechanismen der Elimination 136
5.3.	Kinetische Parameter 138
5.3.1.	Fiktive Anfangskonzentration 138
5.3.2.	Einfluß der applizierten Phenyl- alaninmenge 140
5.3.3.	Kenngrößen der Phenylalanin- Metabolisierung 140
5.3.4.	Einfluß der Applikationsdauer 142
5.3.5.	Einfluß eines erhöhten Gleich- gewichts 142
5.3.6.	Konstanten der Sättigungskinetik 145
6.	ZUSAMMENFASSUNG 148
	LITERATURVERZEICHNIS
	ANHANG

1. E I N L E I T U N G

Die Pharmakokinetik des Phenylalanins wurde bisher nicht systematisch untersucht. Dies verwundert etwas, da Belastungstests in der Diagnostik der Phenylketonurie und in der Heterozygotendiagnostik eine gewisse Rolle spielen.

Fehlende Kenntnisse der verschiedenen Variablen der Phenylalanin-Pharmakokinetik erklären vielleicht auch, daß die bisher nicht standardisierten Belastungstests in der Vergangenheit so unterschiedliche Ergebnisse zeigten.

1.1. Homöostase des Phenylalanins

Aminosäuren werden im Dünndarm in freier Form (ABDERHALDEN, 1907; ELWYN und Mitarbeiter, 1968; SCRIVER und ROSENBERG, 1973) und als Peptide (NEWBY und SMITH, 1960; 1962; ADIBI und MORSE, 1971; MÄTTHEWS, 1975) resorbiert. Sie gelangen anschließend über schnell ablaufende Prozesse in die Körperzellen (v.SLYKE und MEYER, 1913). Das wesentliche Transportorgan zwischen Dünndarm und den Körpergeweben ist das Blutplasma (CHRISTENSEN, 1953; MEISTER, 1965 b; GAN und JEFFAY, 1967; ELWYN, 1966; MUNRO, 1970; WOLFF und BERGMAN, 1972; SCRIVER und ROSENBERG, 1973; FELIG, 1975). Aus dem Plasma und der interstitiellen Flüssigkeit werden die Aminosäuren mittels mehrerer aktiver, z.T. energieabhängiger Transportsysteme in das Zellinnere eingeschleust (OXENDER und CHRISTENSEN, 1963; CHRISTENSEN, 1964; 1966; 1969; SCRIVER, 1969; PARDRIDGE und JEFFERSON, 1975; DONNER und Mitarbeiter, 1978; GUIDOTTI und Mitarbeiter, 1978). Je nach Alter und Organsystem des betreffenden Organismus wird ein

variabler Anteil der freien Aminosäuren im Zellinneren zur Proteinsynthese verwendet. Der andere Teil wird im Intermediärstoffwechsel zu anderen niedrigmolekularen Substanzen umgebaut oder unterliegt dem Abbau (MEISTER, 1965 a; SCRIVER und ROSENBERG, 1973; FELIG, 1975).

Bei der Phenylketonurie ist die Eiweißsynthese quantitativ normal. Dagegen kann derjenige Phenylalaninanteil, der normalerweise dem Abbau unterliegt, durch das Fehlen der Phenylalaninhydroxylase nicht in Tyrosin umgewandelt werden. Der Phenylalanin Gehalt in Körperflüssigkeiten ist erhöht (FØLLING und Mitarbeiter, 1938; JERVIS und Mitarbeiter, 1940; PERRY und JONES, 1961; McKEAN und PETERSON, 1970; McKEAN, 1972). Ein Teil dieses Phenylalanins wird über normalerweise quantitativ unwesentliche Abbauwege in eine Vielzahl verschiedener Metaboliten umgewandelt (LUTZ, 1971; WADMAN und Mitarbeiter, 1971; RAMPINI und Mitarbeiter, 1974). Die Höhe der Phenylalaninkonzentration im Plasma richtet sich bei der Phenylketonurie nach der Phenylalaninzufuhr mit der Nahrung und der Phenylalaninelimination durch die Leber. Andererseits findet man bei einer gewissen Restaktivität der Umwandlung von Phenylalanin in Tyrosin wesentlich niedrigere Werte als bei totaler Inaktivität der Phenylalaninhydroxylase.

Heterozygote Merkmalsträger der Phenylketonurie weisen gewisse Unterschiede hinsichtlich der Phenylalaninelimination gegenüber Normalpersonen auf. Das wurde so gedeutet, daß nur die Hälfte der Ak-

tivität der Phenylalaninhydroxylase der Leber bei ihnen zur Verfügung steht, eine Annahme, die bisher nicht bewiesen wurde. Zur Entdeckung dieser Heterozygoten wurden verschiedene Belastungstests benutzt. So wurde von HSIA und Mitarbeiter (1956) ein oraler Belastungstest eingeführt, der später in Modifikationen auch von anderen Gruppen (BERRY und Mitarbeiter, 1957; JERVIS, 1960; RAMPINI und Mitarbeiter, 1969; u.a.) benutzt wurde.

Intravenöse Belastungstests wurden ebenfalls verwendet (LIPPMAN und Mitarbeiter, 1960; BREMER und NEUMANN, 1966 a; PERRY und Mitarbeiter, 1967; WOOLF und Mitarbeiter, 1967; JAGENBURG und Mitarbeiter, 1977 a; JAGENBURG und RÖDJER, 1977).

Phenylalanin ist eine essentielle Aminosäure für den Menschen (WOMACK und ROSE, 1934; ROSE, 1937; 1949). Die minimale tägliche Zufuhr für Erwachsene wird mit 1,1 g angenommen; 70 - 75% davon sind durch Tyrosin ersetzbar (ROSE, 1949; ROSE und Mitarbeiter, 1955). Die wesentlichen Nahrungsproteine haben einen Phenylalaningehalt von etwa 4 - 6g/100g Protein (FAO, 1976). Nach intestinaler Digestion und Resorption einer Fleischmahlzeit findet sich im Portalvenenblut von Hunden die gleiche anteilmäßige Phenylalaninkonzentration wie im zugeführten Protein (ELWYN und Mitarbeiter, 1968). Die Resorption verläuft recht schnell (GUPTA und Mitarbeiter, 1958; ADIBI und Mitarbeiter, 1967; SCRIVER und ROSENBERG, 1973). Nach oraler Gabe einer größeren Menge von Protein, Aminosäuren oder Phenylalanin allein ist ein Phenylalaninanstieg im peripherem Blut bereits 30 - 60 Min. später nachweisbar (HSIA und Mitarbeiter, 1956; FRAME 1958; JERVIS, 1960; ELWYN und

Mitarbeiter, 1968; WOLFF und Mitarbeiter, 1972; YAMAMOTO und Mitarbeiter, 1974; TAGARI und BERGMAN, 1978).

Phenylalanin wird aktiv durch die Darmzelle transportiert. Dieser Prozeß ist z.T. natrium- und energieabhängig und wird wahrscheinlich von mindestens zwei unabhängigen Transportsystemen bewerkstelligt (CHRISTENSEN und Mitarbeiter, 1963; ADIBI und GRAY, 1967; SCHEDL und Mitarbeiter, 1968; SCRIVER, 1969; ROSE und SCHULTZ, 1970; WAPNIER und Mitarbeiter, 1972; WAPNIER und LIFSHITZ, 1974; LÜCKE und Mitarbeiter, 1978; SEPÚLVEDA und SMITH, 1978).

1.1.1. Plasmakonzentrationsverlauf nach Resorption

Während der intestinalen Resorption nach Zufuhr einer normalen Nahrungsmenge steigt die Konzentration von Phenylalanin und anderen Aminosäuren im Portalvenenblut verschiedener Säugetiere deutlich an (GANAPATHY und Mitarbeiter, 1962; GOLDBERG und GUGGENHEIM, 1962; ELWYN und Mitarbeiter, 1968; WOLFF und Mitarbeiter, 1972; YAMAMOTO und Mitarbeiter, 1974; TAGARI und BERGMAN, 1978). Der Konzentrationsanstieg im peripheren Blut ist jedoch deutlich geringer (GANAPATHY und Mitarbeiter, 1962; PERAINO und HARPER, 1963; ELWYN und Mitarbeiter, 1968) und kurzfristiger (ELWYN und Mitarbeiter, 1968). Auch beim Menschen wird die Plasma-Phenylalaninkonzentration im peripheren Blut nur wenig durch die intestinale Resorption nach einer normalen Mahlzeit verändert (SWENSEID und Mitarbeiter, 1967; WURTMAN und Mitarbeiter, 1968; SNYDERMAN und Mitarbeiter 1968; FEIGIN und Mitarbeiter, 1968; 1971;

WELLER und Mitarbeiter, 1969; STEGINK und BAKER, 1970; SCRIVER und Mitarbeiter, 1971; ARMSTRONG und STAVE, 1973). Selbst eine stark erhöhte Proteinzufuhr über längere Zeit führt nur zu einem maximal 50%igen Anstieg (FRAME, 1958; YEARICK und NADEAU, 1967; FEIGIN und Mitarbeiter, 1968; SNYDERMAN und Mitarbeiter, 1968).

1.2. Utilisation

1.2.1. Leberaufnahme

Ein erheblicher Teil des im Portalvenenblut erscheinenden Phenylalanins wird in der Leber verwertet. Aufgrund der Konzentrationsdifferenzen im zuführenden und abfließenden Blut der Leber wird die Aufnahmekapazität der Leber eines erwachsenen Hundes auf 40 bis 80 mMol Phenylalanin/kg Lebergewicht nach einer Fleischmahlzeit geschätzt (ELWYN und Mitarbeiter, 1968). Bei Schafen wird fast das gesamte über den Darm resorbierte Phenylalanin in der Leber umgesetzt. Während einer Fütterungsperiode mit kaseinreichem Futter werden von der Leber im Mittel 1,09 mMol Phenylalanin/Stunde aufgenommen (WOLFF und Mitarbeiter, 1972). Die Phenylalaninaufnahme der perfundierten isolierten Rattenleber ist abhängig von der Phenylalanin-Konzentration im Perfusat: Sie beträgt 19 μ Mol/g Leber/Std. bei einer Zufuhr in der Perfusionsflüssigkeit von 1 mMol/l, 36 μ Mol/g Leber/Std. bei 5 mMol/l und 90 μ Mol/g Leber/Std. bei 30 mMol/l (YOUDIM und Mitarbeiter, 1975). Auch beim Menschen ist die Leber das wesentliche Organ für den Umsatz der meisten Aminosäuren

(FELIG, 1975). Im Nüchterzustand ist die Konzentration der meisten Aminosäuren, auch des Phenylalanins, im Lebervenenblut geringer als im arteriellen Blut (ONEN und Mitarbeiter, 1956; CARLSTEN und Mitarbeiter, 1967). Die Netto-Aufnahme der Leber für Phenylalanin wird dabei auf $2,6 \mu\text{Mol}/\text{min}$ geschätzt. Im Nüchterzustand findet sich eine Freisetzung von Phenylalanin in der Peripherie, hauptsächlich in der Muskulatur (FELIG und WAHREN, 1971). Die arterio-venöse Differenz im Muskel ist deutlich negativ (POZEFSKY und Mitarbeiter, 1969a, 1969 b). Die tägliche Phenylalaninfreisetzung soll nach dieser Untersuchung im Mittel etwa $7,9 \text{ mMol}$ beim Erwachsenen (70 kg KG , 40% Muskelmasse) betragen.

1.2.2. Transport vom extrazellulären in den intrazellulären Raum

1.2.2.1. Geschwindigkeit

Der Übertritt einiger Aminosäuren aus der extrazellulären Flüssigkeit in das Zellinnere geht sehr schnell vor sich (SCRIVER, 1969; SCRIVER und ROSENBERG, 1973). Nach Injektion ^{14}C -markierter Aminosäuren fanden sich bereits 10 Minuten nach Injektion nur noch 3% der injizierten Menge im Blut (BORSOOK und Mitarbeiter, 1950). ^{14}C -markiertes Glyzin wird sehr schnell von Ehrlich-Aszites-Tumorzellen aufgenommen (HEINZ, 1954).

Die Kaninchenleber nimmt markiertes Glyzin ebenfalls sehr rasch auf; bereits nach 15 - 20 Minuten ist das Leberglyzin mit dem des Plasmas ausgetauscht (HENRIQUES und Mitarbeiter, 1955). Der Zeitabstand zwischen der Gabe von markiertem Leuzin oder Glyzin

und dem Auftreten markierten Proteins in der extrazellulären Flüssigkeit ist offenbar nur von der Geschwindigkeit der Proteinsynthese abhängig (GREEN und ANKER, 1955). ^{14}C -markiertes Valin und Leuzin werden so schnell in die Zelle transportiert, daß 5 - 10 Minuten nach der Inkubation eine 5-fach höhere Aktivität als in der Extrazellulär-Flüssigkeit festzustellen ist (OXENDER und CHRISTENSEN, 1963; CHRISTENSEN, 1964). Ähnlich schnell verläuft der Transport von markiertem Lysin und Arginin aus dem Kulturmedium in kultivierte Fibroblasten (GROTH und ROSENBERG, 1972) sowie von markiertem Leuzin in isolierte Leukozyten (WINKLER, 1972). Bei ^{14}C -markiertem Valin ist bei der perfundierten Ratte ein Konzentrationsausgleich zwischen Perfusat und Gewebe nach 6 Minuten erreicht (MORTIMORE und Mitarbeiter, 1972). Mit ^{14}C -markiertem Leuzin wird nach intravenöser Injektion ein Aktivitätsmaximum im Lebergewebe bereits nach einer Minute erreicht (MORGAN und PETERS, 1971). Die prozentuale Extraktion der Rattenleber für Phenylalanin während einer einmaligen Kreislaufzeit (18 sec) beträgt bei einer Konzentration von $5\text{ }\mu\text{M}$ Phenylalanin im Mittel 80,5% (PARDRIDGE und JEFFERSON, 1975). Der Phenylalaninanstieg im Plasma, Lebergewebe und Hirngewebe von Ratten nach intraperitonealer Injektion verläuft praktisch parallel (VALDIVIESO und Mitarbeiter, 1977).

Bei Rattenherzen, die mit einer $0,01\text{ mM}$ Phenylalaninlösung perfundiert wurden, erreicht die intrazelluläre Phenylalaninkonzentration nach 4 - 8 Minuten

ein Gleichgewicht (McKEE und Mitarbeiter, 1978).

1.2.2.2. Transportsystem

Der Übertritt von Aminosäuren aus der Extrazellulärflüssigkeit in das Zellinnere ist ein aktiver energieabhängiger Prozeß (MEISTER, 1965 b; CHRISTENSEN, 1969; SCRIVER und ROSENBERG, 1973; CHRISTENSEN und Mitarbeiter, 1973; CHRISTENSEN, 1976). Nach Bindung an einen Carrier an der Außenseite der Membran erfolgt eine Durchschleusung der Aminosäure durch die Membran mittels eines Transport-Proteins und die Freisetzung an der Innenseite der Membran (GUIDOTTI und Mitarbeiter, 1978). Die Zahl der Carrier und Transportproteine ist offenbar begrenzt, beide Parameter, ebenso wie der Vorgang des Durchschleusens, zeigen eine begrenzte Kapazität mit einer maximalen Geschwindigkeit und einer maximalen Substrat-Konzentration im Sinne einer Michaelis-Menten-Kinetik (SCRIVER, 1969; CHRISTENSEN, 1969; WINKLER und Mitarbeiter, 1972).

Darüberhinaus bewirkt die Konzentrationserhöhung einer Aminosäure in der Extrazellulärflüssigkeit eine Transporthemmung für andere Aminosäuren. Das ist ein Hinweis, daß für bestimmte Aminosäuren jeweils ein gemeinsames Transportsystem vorhanden ist (OXENDER und CHRISTENSEN, 1963; CHRISTENSEN, 1964; 1969). Bei Untersuchungen an Zellen verschiedener Organe konnten insgesamt fünf Transportsysteme differenziert werden, wobei es Überlappungen in der Zugehörigkeit einzelner Aminosäuren zu den jeweiligen Transportsystemen gibt.

Phenylalanin wird hauptsächlich durch das sogenannte L-System (Leuzin-bevorzugend) transportiert, das

wahrscheinlich in allen Zellen vorkommt und außer für Phenylalanin das bevorzugte Transportsystem für Leuzin, Isoleuzin, Valin, Methionin, Histidin und Tryptophan ist. Dieses System transportiert Aminosäuren nicht gegen einen Konzentrationsgradienten. Der Geschwindigkeitsverlauf des Transports in Abhängigkeit zur Substratkonzentration ist hyperbolisch wie bei der klassischen Michaelis-Menten-Kinetik (OXENDER und CHRISTENSEN, 1963; CHRISTENSEN und Mitarbeiter, 1965; CHRISTENSEN, 1969; 1973; OXENDER und Mitarbeiter, 1977; GUIDOTTI und Mitarbeiter, 1978).

Daneben ist am Phenylalanintransport das sogenannte A-System beteiligt. Dies ist ein bevorzugtes System für den Transport von Alanin, Serin, Prolin, Threonin, Asparaginsäure, Glutaminsäure und Methionin. Dieses System findet sich außer in Ehrlich-Asziteszellen (OXENDER und CHRISTENSEN, 1963) im Darm, in der Niere, in Knochenzellen, im Gehirn, in isolierten Leukozyten, Fibroblasten, Hepatozyten und anderen Säugetierzellen (ROSENBERG und DOWNING, 1965; CHRISTENSEN, 1969; GROTH und ROSENBERG, 1972; GUIDOTTI und Mitarbeiter, 1975; BOOTH und NADLER, 1975; OXENDER und Mitarbeiter, 1977; FINKELSTEIN und ADELBERG, 1977; LE CAM und FREYCHET, 1977; DONNER und Mitarbeiter, 1978; FEHLMANN und Mitarbeiter, 1979). Es weist ebenfalls eine Sättigungskinetik nach Michaelis und Menten auf, transportiert jedoch Aminosäuren gegen einen Konzentrationsgradienten aus der Extrazellulärflüssigkeit ins Zellinnere (uphill-Transport) (OXENDER und CHRISTENSEN, 1963; ROSENBERG und DOWNING, 1965; CHRISTENSEN und CULLEN, 1967; CRAWHALL und SEGAL, 1968; CHRISTEN-

SEN, 1969; LE CAM und FREYCHET, 1977; GUIDOTTI und Mitarbeiter, 1978; FEHLMANN und Mitarbeiter, 1979; KELLY und Mitarbeiter, 1979).

Das A-System der Leberzelle ist charakterisiert durch eine hohe Affinität zu den entsprechenden Aminosäuren bei begrenzter Kapazität (high affinity - low capacity) (FEHLMANN und Mitarbeiter, 1979). Es reagiert mit einer Änderung der Transportgeschwindigkeit adaptiv auf niedrige Aminosäurenkonzentrationen in der Extrazellulärflüssigkeit (HEATON und GELEHRTER, 1977; KELLEY und POTTER, 1978; FEHLMANN und Mitarbeiter, 1979). Dagegen unterliegt das L-System offenbar einer Steuerung durch die intrazelluläre Aminosäurenkonzentration: Die Transportaktivität ist höher bei Zellen, in denen die Aminosäurenkonzentration erhöht wurde (OXENDER und CHRISTENSEN, 1963; LACY, 1970; LE CAM und FREYCHET, 1977; OXENDER und Mitarbeiter, 1977; DONNER und Mitarbeiter, 1978). Dies führt nicht zu einer intrazellulären Konzentrationszunahme, da der Aminosäuretransport von intra- nach extrazellulär ebenfalls stimuliert wird (GUIDOTTI und Mitarbeiter, 1978; KELLY und Mitarbeiter, 1979; FEHLMANN und Mitarbeiter, 1979).

Die Transportkapazität der menschlichen Leberzelle für Phenylalanin ist nicht bekannt. Die Aufnahmegeschwindigkeit bei Rattenleberzellen, gemessen in inkubierten Leberschnitten, beträgt 0,137 $\mu\text{Mol/ml}$ Zellwasser in 30 Minuten (GUIDOTTI und Mitarbeiter, 1975). Embryonale Zellen scheinen Aminosäuren effektiver von extrazellulär nach intrazellulär zu transportieren (GUIDOTTI und Mitarbeiter, 1974).

1.2.2.3. Transportmodelle und Transportmaxima

Bei der Untersuchung des Aminosäuretransports in Leberzellen müßte theoretisch der weitere Intermediärstoffwechsel des Phenylalanins berücksichtigt werden, der einen erheblichen Einfluß auf kinetische Messungen haben könnte (CHRISTENSEN, 1969; GUIDOTTI und Mitarbeiter, 1978). Um diese Parameter auszuschalten, wurden Zellsysteme mit niedriger Stoffwechselrate (Ehrlich's Aszites-Tumorzellen), extrem kurze Inkubations- und Perfusionszeiten sowie nicht-metabolisierbare Aminosäuren-Analoge (2-Aminoisobuttersäure als Substanz für das Transportsystem A, Cycloleuzin als Substanz für das L-System) benutzt.

Bei Ehrlich's Asziteszellen beträgt der K_M -Wert für Phenylalanin im Zellmedium 0,4 mM. N-Methylphenylalanin, dessen Transport offenbar ausschließlich vom A-System bewerkstelligt wird, wird um etwa zwei Drittel langsamer in die Zelle transportiert. Dies wird als ein weiterer Hinweis dafür angesehen, daß Phenylalanin bevorzugt vom L-System der Ehrlich's-Zelle transportiert wird (CHRISTENSEN und Mitarbeiter, 1964; CHRISTENSEN, 1969).

Auch an 3T3-Fibroblasten von Mäusen konnten zwei Komponenten des Phenylalanintransportes nachgewiesen werden, ein System hoher Affinität ($K_M = 0,02$ mM, $V_{Max} = 13,3$ nMol/mg Protein/min) und ein System niedriger Affinität, jedoch höherer Kapazität (OXENDER und Mitarbeiter, 1977). K_M -Werte und maximale Transportgeschwindigkeit zeigen für die Aminosäuren, die bevorzugt vom L-System

transportiert werden, gewisse Unterschiede. Dagegen sind diese Größen für Alanin, Serin und 2-Aminoisobuttersäure, die vom A-System transportiert werden, nahezu identisch (OXENDER und CHRISTENSEN, 1963; OXENDER, 1969; CHRISTENSEN und Mitarbeiter, 1964; INUI und CHRISTENSEN, 1966).

An isolierten Leberzellen der Ratte wurde für L-Cykloleuzin ein K_M -Wert von im Mittel 2,5 mM und eine maximale Transportgeschwindigkeit von im Mittel 1,2 $\mu\text{Mol/ml}$ Zellwasser/min gemessen (LE CAM und FREYCHET, 1977).

1.2.3. Proteinsynthese

Ein wechselnder Anteil des Phenylalanins des Aminosäurepools wird in Protein eingebaut. Der Rest wird abgebaut. Ausmaß und zeitlicher Ablauf dieser Teilprozesse sind u.a. vom Ernährungszustand und Alter des Patienten abhängig. Nach Untersuchungen von SPRINSON und RITTENBERG (1949) werden von oral verabreichtem ^{15}N -Glyzin (10 mg/kg Körpergewicht) 70% in körpereigenes Protein eingebaut, wenn eine normale Eiweißzufuhr besteht. Dieser Anteil sinkt unter einer eiweißreichen Kost auf etwa 25% ab. In der perfundierten Rattenleber läßt sich der Einbau von ^{14}C -Valin in Proteine nur um etwa 40% steigern, wenn die Konzentration aller Aminosäuren im Medium um das 10-fache erhöht wird (WOODSIDE und MORTIMORE, 1972). Das trifft auch für das ^{14}C -Leuzin bei isolierten menschlichen Leberzellen

zu. Ein Maximum von 19 nMol/g Leber/Std. wurde bei 4-facher Plasmaamino-säurenkonzentration erreicht (STAKEBERG und Mitarbeiter, 1973). Eine weitere Steigerung des Aminosäurenangebots scheint keine Zunahme des Einbaus extrazellulärer Aminosäuren in Protein zu bewirken (LOFT-FIELD und HARRIS, 1956). Hauptorgan für die Utilisation der Aminosäuren, entweder aus dem Darm resorbiert oder durch Infusion oder Injektion zugeführt, ist die Leber. Im Hungerzustand wird der intrazelluläre Gesamtbestand sowohl der freien Aminosäuren als auch der in Protein eingebauten Aminosäuren konstant gehalten. Der Einbau sinkt erst nach längerem Hungern ab. Die Änderung des Aminosäureeinbaus in Protein dürfte damit ein weiterer Prozeß bei der Regulierung des intra- und extrazellulären Aminosäuregleichgewichts sein (POZEFSKY und Mitarbeiter, 1969a; FEIGIN und Mitarbeiter, 1971; FELIG und WAHREN, 1971; ADIBI, 1971).

Die Umsatzrate intravenös injizierten ^{14}C -Phenylalanins betrug bei 3 Patienten mit Phenylketonurie 82 - 128 $\mu\text{Mol/min}$. Unter der Annahme, daß bei Menschen mit diesem Stoffwechseldefekt das Phenylalanin aus dem Gesamtkörperbestand zu weniger als 10% metabolisiert wird, errechnete sich eine Proteineinbaurrate von 4,46 - 6,2 mMol Phenylalanin/Std. bezogen auf 70 kg Körpergewicht (GRÜMER und Mitarbeiter, 1962). Bei erwachsenen Menschen wurde anhand eines kinetischen Modells, das den Bestand von Tyrosin, Phenylalanin und Protein berücksichtigte, eine Einbaugeschwindigkeit von Phenylalanin in Protein

mit 4,37 mMol/Std. errechnet (JAMES und Mitarbeiter, 1976). Am isoliert perfundierten Rattenherz ist die Einbaugeschwindigkeit von ^{14}C -Phenylalanin in Protein im Bereich von 0,01 bis 3,6 mM Phenylalanin im Perfusat konstant niedrig (106 nMol/g Herz/Std. (McKEE und Mitarbeiter, 1978).

1.2.4. Intrazelluläre Kompartimente, pools

Die Verteilungsraten von intra- und extrazellulären Aminosäuren bei in situ perfundierten Rattenlebern zeigten ein Verhalten, das nur so gedeutet werden kann, daß zwei intrazelluläre pools existieren (MORTIMORE und Mitarbeiter 1972; HENSHAW und Mitarbeiter, 1971; AIRHART und Mitarbeiter, 1974; KHAIRALLAH und MORTIMORE, 1976). Der sogenannte expandierbare pool gleicht sich der extrazellulären Konzentration rasch an und steht in direkter Beziehung zur Proteineinbaurrate (MORTIMORE und Mitarbeiter, 1972; WINKLER, 1972; AIRHART und Mitarbeiter, 1974; McKEE und Mitarbeiter, 1978). Daneben existiert ein nicht-expandierbarer pool, der sich nicht der extrazellulären Aminosäurenkonzentration angleicht und die bei der Proteolyse freiwerdenden Aminosäuren umfaßt (MORTIMORE und Mitarbeiter, 1972).

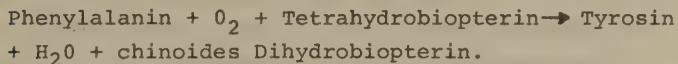
1.2.5. Phenylalaninabbau

Der größte Teil des mit der Nahrung aufgenommenen Phenylalanins wird abgebaut. Bereits 1913 konnte an perfundierten Hundelebern gezeigt werden, daß im tierischen Organismus aus Phenylalanin Tyrosin entsteht (EMBDEN und BALDES, 1913). KOTAKE und Mitarbeiter (1922) wiesen dann durch Belastungsversuche an Kaninchen nach, daß neben Tyrosin auch Phenyl-

laktat, OH-Phenylpyruvat und OH-Phenyllaktat entstehen. Die Desaminierung und Dekarboxylierung von Phenylalanin ist normalerweise nicht sehr wesentlich (EMBDEN und BALDES, 1913; KOTAKE, 1922; MEISTER, 1965 b; DAVID und Mitarbeiter, 1974). Etwa 0,6% des in isolierten perfundierten Rattenlebern aufgenommenen Phenylalanins wird zu Phenyläthylamin dekarboxyliert (BLAU und Mitarbeiter, 1976). Maximal 6% einer Belastungsdosis von 3,64 mMol/kg Körpergewicht wurden bei lebenden Ratten über diesen Weg desaminiert oder dekarboxyliert (HALEY und HARPER, 1978). Beim Menschen ist die Bildung von Phenyllaktat, p-Hydroxyphenylpyruvat und p-Hydroxyphenyllaktat normalerweise ein unbedeutender Nebenweg im Abbau des Phenylalanins (RAMPINI und Mitarbeiter, 1974).

1.2.5.1. Phenylalanin-Hydroxylase

Hauptabbauweg ist die Hydroxylierung zu Tyrosin (MOSS und SCHOENHEIMER, 1940). Im Säugetierorganismus ist sie ein irreversibler Schritt (GRAU und STEELE, 1954). Sie erfolgt enzymatisch nach folgendem Reaktionsschema (KAUFMAN 1971; 1976; 1978):



Die Reduktion des chinoiden Dihydrobiopterin zum Tetrahydrobiopterin (KAUFMAN, 1963) wird durch die Dihydropterinreduktase katalysiert (KAUFMAN, 1957; 1967; 1971). Das chinoides Dihydrobiopterin kann in vitro spontan zum 7,8-Dihydrobiopterin tautomerisieren (KAUFMAN, 1957; 1964). 7,8-Dihydrobiopterin

kann im Organismus nur mittels der Dihydrofolat-Reduktase zu Tetrahydrobiopterin reduziert werden (KAUFMAN, 1967). Die Bedeutung der Dihydrofolat-Reduktase in vivo für die Aktivität der Phenylalaninhydroxylase ist unbekannt. Einen weiteren Faktor für die Aktivität der Phenylalaninhydroxylase stellt das Phenylalanin-Hydroxylase-stimulierende Protein dar, das in Anwesenheit von Tetrahydrobiopterin eine Aktivitätssteigerung der Phenylalanin-Hydroxylase bewirkt (KAUFMAN, 1970; HUANG und Mitarbeiter, 1973; FRIEDMAN und KAUFMAN, 1973).

Eine synergistische Aktivitätssteigerung dieses Enzyms wird in vitro bei der Zugabe von Phospholipiden und α -Chymotrypsin gefunden, möglicherweise bedingt durch eine Konformationsänderung oder eine Verkleinerung des Enzym-Moleküls (FISHER und KAUFMAN, 1972; 1973; FRIEDMAN und Mitarbeiter; 1972; FRIEDMAN und KAUFMAN, 1973; FRIEDMAN und Mitarbeiter, 1973). Die Phosphorylierung der Phenylalanin-Hydroxylase mittels einer Proteinkinase in Anwesenheit von zyklischem Adenosinmonophosphat führt zu einer 3-fachen Steigerung der Aktivität (ABITA und Mitarbeiter, 1976). Die gleiche Aktivitätssteigerung läßt sich durch eine Vorbehandlung mit Glukagon erreichen, das über zyklisches Adenosinmonophosphat zu einem Phosphateinbau in das Enzymmolekül führt (DONLON und KAUFMAN, 1978) (s. Abb. 1).

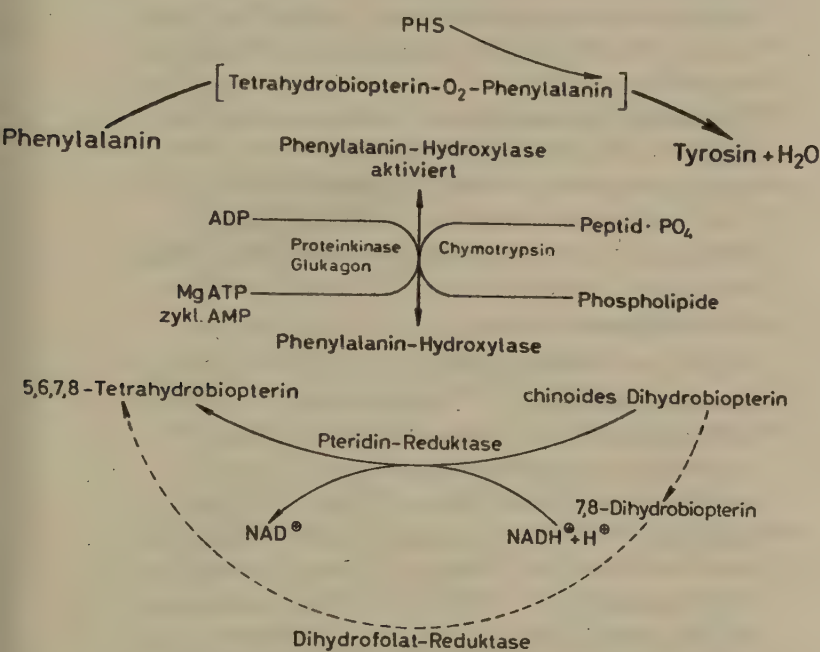


Abb. 1:

Reaktionsschema des Phenylalaninhydroxylase-Systems.

- AMP : Adenosindiphosphat
- zykl. AMP : zyklisches 3', 5'-Adenosinmonophosphat
- ATP : Adenosintriphosphat
- NAD⁺ : oxidiertes Nikotinamidadenindinukleotid
- NADH⁺ : reduziertes Nikotinamidadenindinukleotid
- PHS : Phenylalaninhydroxylase-stimulierendes Protein

1.2.5.2. Kinetik des Phenylalanin-Hydroxylase-Systems

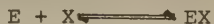
Die Phenylalanin-Hydroxylase ist beim Menschen wahrscheinlich nur in der Leberzelle vorhanden (MURTHY und BERRY, 1975). Die katalytischen und kinetischen Eigenschaften sind am besten am Enzym der Rattenleber untersucht.

Hier sollen nur die Untersuchungen berücksichtigt werden, bei denen die Enzymaktivität in Anlehnung an physiologische Verhältnisse gemessen wurde (KAUFMAN, 1971; KAUFMAN und MAX, 1971; KAUFMAN, 1978).

Die Aktivität des isolierten Enzyms nimmt bei einem pH-Wert von 8 in Gegenwart von Tetrahydrobiopterin als Kofaktor bei steigender Enzymkonzentration ab, jedoch nicht nach Zugabe des Hydroxylase-stimulierenden Proteins (KAUFMAN, 1970). Die Geschwindigkeits-Substratkurve verläuft bei Verwendung von 5,6-Dimethyltetrahydrobiopterin als Kofaktor bei steigender Phenylalaninkonzentration hyperbolisch im Sinne der klassischen Michaelis-Menten-Kinetik (KAUFMAN, 1971). Die K_M -Werte sind für die drei bekannten Isoenzyme der Phenylalanin-Hydroxylase gleich (BARRANGER, 1976). Mit 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin als Kofaktor verläuft die Kurve bis zu einer Phenylalaninkonzentration von 0,1 mM hyperbolisch, jedoch oberhalb dieser Konzentration sigmoidal. Die Hill-Koeffizienten (HILL, 1913) waren bei niedriger und bei höherer Phenylalaninkonzentration 0,9 bzw. 2,1 als Hinweis für zwei verschiedene Enzymformen (KAUFMAN, 1970):

Etwa 25% der Aktivität sind danach durch ein Enzym hoher Affinität zu Phenylalanin (K_M -Wert 0,04 mM) bei niedriger maximaler Reaktionsgeschwindigkeit V_{Max} , etwa 75% der Aktivität durch ein Enzym niedriger Affinität (K_M 0,17 mM) und höherer V_{Max} bedingt. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit beträgt 90,6 nMol oxidiertes NADPH/min pro mg reines Enzymprotein bei einer Tetrahydrobiopterinkonzentration von 12 μ M im optimierten Reaktionsansatz bei 37°C (FISHER und KAUFMAN, 1973).

Die Zugabe von Hydroxylase-stimulierendem Protein steigert die Enzymaktivität um 200 bis 300%, wobei der K_M -Wert für Phenylalanin etwas ansteigt und die V_{Max} um etwa das Doppelte zunimmt; der K_M -Wert für Tetrahydrobiopterin ändert sich nicht. Dagegen nimmt die Hemmung der Enzymaktivität bei höheren Phenylalaninkonzentrationen (oberhalb 0,5 mM) deutlich zu. Aus dieser Untersuchung wurde abgeleitet, daß ein Gleichgewicht zwischen einer weniger aktiven Enzymform (EX) und einer aktiveren Enzymform (E) nach der Gleichung



gegeben sein müsse, wobei durch Zugabe von Hydroxylase-stimulierendem Protein eine Verschiebung in Richtung der aktiveren Enzymform stattfindet (KAUFMAN, 1970; 1971). Die Erhöhung der Phenylalaninkonzentration würde dagegen eine Verschiebung zur weniger aktiven Enzymform bewirken (KAUFMAN, 1971).

Phospholipide und Chymotrypsin stimulieren die Phenylalanin-Hydroxylase-Aktivität derart, daß die Geschwindigkeits-Substratkurve im Bereich zwischen 0,1 und 0,2 mM Phenylalanin eine hyperbolische Form annimmt. Bei Phenylalaninkonzentrationen oberhalb von 0,2 mMol tritt wiederum eine deutliche Hemmung der Enzymaktivität auf. Lezithin, das einen hemmenden Effekt auf die Aktivität der Phenylalaninhydroxylase hat, wird in der Leber durch die Phospholipase A₂ in Lyssolezithin umgewandelt (WAITE und v.DEENEN, 1967). Dieser Vorgang könnte eine aktive Rolle hinsichtlich eines gesteigerten Phenylalaninumsatzes bei vermehrtem Angebot (z.B. Nahrungszufuhr) spielen (FISHER und KAUFMAN, 1972; 1973). Eine weitere physiologische Regelung der Enzymaktivität ist denkbar durch die Phosphorylierung mittels einer Proteinkinase (ABITA und Mitarbeiter, 1976; DONLON und KAUFMAN, 1977) bzw. Dephosphorylierung mittels einer spezifischen Phenylalanin-Hydroxylase-Phosphatase (JEDLICKI und Mitarbeiter, 1977), wobei Hormone einen steuernden Einfluß haben könnten (MALLETTE und Mitarbeiter, 1969; DONLON und KAUFMAN, 1978).

Kinetische Untersuchungen des Phenylalanin-Hydroxylase-Systems in menschlicher Leber sind spärlich. Die K_M-Werte für Phenylalanin und 5,6-Dimethyltetrahydrobiopterin in Extrakten aus frei Leberbiopsieproben waren 1,25; 1,20 und 1,25 mM bzw. 5,7 und 5 µM (5,6-Dimethyltetrahydrobiopterin statt natürlichem

Kofaktor im Bestimmungsansatz (KANG und Mitarbeiter, 1970; KAUFMAN und MAX, 1971; FRIEDMAN und Mitarbeiter, 1972).

Die Zugabe von Lysolezithin stimulierte die Enzymaktivität um das 5-fache, gemessen an V_{Max} (FRIEDMAN und Mitarbeiter, 1972). In einem Extrakt aus menschlicher Leber wurde mit 5,6,7,8,-Tetrahydrobiopterin und Lysolezithin im Ansatz ein K_M -Wert von 0,028 mM für Phenylalanin gemessen. Phenylalaninkonzentrationen über 0,1 mM hemmten die Enzymaktivität deutlich (50% Hemmung bei 0,14 mM, FRIEDMAN und Mitarbeiter, 1973).

Ausgedehntere kinetische Messungen waren mit gereinigtem Extrakt von postmortal entnommener Leber möglich: K_M -Werte für Phenylalanin (Substratbereich 0,02 - 0,085 mM) und für 5,6,7,8,-Tetrahydrobiopterin (Substratbereich 3,2-40 μM) waren 0,05 mM bzw. 3 μM . Das Maximum der Tyrosinbildung wurde bei einer Konzentration von etwa 0,1 mM Phenylalanin erreicht, darüber trat wiederum Enzymhemmung auf (FRIEDMAN und KAUFMAN, 1973).

Umsatzraten in Leberbiopsieproben von gesunden Personen lagen im Mittel bei 93,5 $\mu\text{Mol/g Protein/Std.}$ (63 - 187 $\mu\text{Mol/g Protein/Stunde}$, $n = 13$, Zusatz von 5,6,7,8,-Tetrahydrobiopterin, Dithiothreitol und Lysolezithin) (BARTHOLOME und Mitarbeiter, 1975). Diese Werte würden, umgerechnet in Umsatz/g Lebergewebe (Proteingehalt der Leber: 16 - 20 g/100 g Feuchtwicht; Verhältnis des Lebergewichts zum Körpergewicht des erwachsenen Menschen: 1 : 33 (KOLB, 1964)) Umsatzraten von

etwa 6 - 8 μMol gebildetem Tyrosin/g Lebergewebe/Std. ergeben. Nimmt man dazu im Vergleich die Umsatzrate des isolierten Enzyms aus menschlicher Leber unter Verwendung von natürlichem Kofaktor, Lysolezithin und Hydroxylase-stimulierendem Protein, und legt man Enzymgehalte in Analogie zur Rattenleber zugrunde, so errechnet sich hierbei eine Umsatzrate von etwa 1,2 μMol Tyrosin/g Leber/Std. Aktivitätssteigernde Einflüsse, wie z.B. eine Phosphorylierung, sind hierbei nicht berücksichtigt.

1.3. Phenylalanin-Gleichgewicht im Plasma

1.3.1. Werte für Normalpersonen

Die Konzentration des freien Phenylalanins im Plasma wird beim gesunden Menschen durch die Nahrungszufuhr, durch den Transport von extranach intrazellulär, durch die Proteinsynthese und Proteinabbau sowie durch die Umwandlung in Tyrosin in einem sehr konstanten Bereich gehalten. In den Morgenstunden gemessen, fanden sich bei gesunden normalgewichtigen und normal ernährten Erwachsenen die in der Tabelle 1 aufgeführten Werte.

Intraindividuelle Konzentrationsschwankungen scheinen bei Phenylalanin nicht groß zu sein (JOB und Mitarbeiter, 1963; ROSENBLATT und SCRIVER, 1968; JACKSON und Mitarbeiter, 1971). Sie sind offenbar genau so groß wie interindividuelle Variationen (JOB und Mitarbeiter, 1963). Die Unterschiede zwischen venösem Blut (tiefe Armvene) und arteriellem Blut (Aorta) sind im

Tab. 1: Phenylalaninkonzentration im Plasma nüchterner
Erwachsener

Phenylalaninkonzentration im Plasma (mM)			
Probanden	Mittelwert	Standardabweichung bzw. -bereich	Autoren
n = 6	0.051	0.041 - 0.057	Stein u. Moore, 1954
n = 6	0.056	0.042 - 0.073	Frame, 1958
n = 4	0.052	0.048 - 0.055	Cusworth u. Dent, 1960
n = 10	0.054	± 0.003 (0.042-0.074)	Linneweh u. Ehrlich, 1962
n = 8	0.050	0.035 - 0.105	Dickinson u. Mitarb., 1965
n = 5	0.045	0.027 - 0.054	Zachman u. Mitarb., 1965
n = 6	0.055	± 0.001	Swendseid u. Mitarb., 1967
n = 8	0.089	± 0.007	Feigin u. Mitarb., 1968
n = 8	0.075	± 0.027	Colombo u. Vassella, 1968
n = 20	0.048	± 0.007 (0.037-0.061)	Perry u. Hansen, 1969
n = 10	0.049	± 0.002	Felig u. Mitarb., 1969
n = 26	0.075	± 0.014	Weller u. Mitarb., 1969
n = 6	0.058	± 0.0015	Pozefsky u. Mitarb., 1969a
n = 10	0.049	± 0.003 (0.035-0.061)	Efron u. Mitarb., 1969
n = 11	0.070	0.060 - 0.080	Kang u. Mitarb., 1970
n = 9	0.050	± 0.001	Felig u. Wahren, 1971

n = 20	0.101	± 0.038	Farriaux u. Delabre, 1972
n = 8	0.067	± 0.003	Armstrong u. Stave, 1973
n = 21	0.050	± 0.006	Bergström u. Mitarb., 1974
n = 17	0.057	± 0.010	Jagenburg u. Mitarb., 1977a
n = 19	0.068	± 0.015	Schoengold u. Mitarb., 1978

Gleichgewichtszustand postabsorptiv nur gering
(POZEFSKY und Mitarbeiter, 1969 b).

Wie für andere Aminosäuren ist auch für die Phenylalaninkonzentration im Plasma ein zirkadianer Rhythmus nachgewiesen. Die niedrigsten Werte werden zwischen 2⁰⁰ und 4⁰⁰ Uhr nachts gefunden, während die Spitzenwerte am Tage zwischen 10⁰⁰ Uhr vormittags und 20⁰⁰ Uhr abends liegen (FEIGIN und Mitarbeiter, 1967; 1968; WURTMAN und Mitarbeiter, 1968).

Die Differenz zwischen niedrigstem und höchstem Wert kann bis zu 40% betragen. Die Proteinzufuhr mit der Nahrung, der Proteinumsatz oder eine Änderung der körperlichen Aktivität scheinen nur von geringem Einfluß auf diese Rhythmik zu sein, dagegen kommt es bei einer länger dauernden Umkehr des Tag-Nacht-Rhythmus zu einer gewissen Verschiebung der Spitzenwerte auf die Morgenstunden (FEIGIN und Mitarbeiter, 1968). Dieser zirkadiane Rhythmus ist bei der Phenylketonurie

verändert (GÜTTLER und Mitarbeiter, 1969).

1.3.2. Erhöhte Konzentration bei gestörter Utilisation

1.3.2.1. Fehlende Aktivität der Phenylalaninhydroxylase -----

Unter einer normalen Proteinzufuhr ist die Phenylalaninkonzentration bei Patienten mit einem angeborenen Defekt der Hydroxylierung (Phenylketonurie) in der Relation zu Tyrosin stark erhöht. Nüchternwerte bis zu 6 mM im Säuglingsalter und zwischen 1,3 und 2,5 mM nach der Pubertät (JERVIS und Mitarbeiter, 1940; ARMSTRONG und LOW, 1956; LINNEWEH und EHRLICH, 1962; PARTINGTON und LEWIS, 1963; BLASKOVICS und Mitarbeiter, 1974) wurden bei solchen Patienten gemessen, bei denen die Aktivität der Phenylalanin-Hydroxylase in Lebergewebe entweder nicht nachweisbar war oder nur eine geringe Restaktivität aufwies. Plasma-Phenylalaninkonzentrationen zwischen 0,06 und 0,36 mM können bei diesen Patienten durch eine starke Einschränkung der täglichen Phenylalaninzufuhr erreicht werden.

1.3.2.2. Stark verminderte Hydroxylase-Aktivität

Neben den Patienten mit fehlender Aktivität der Phenylalaninhydroxylase gibt es Patienten mit einer meßbaren Restaktivität der Phenylalaninhydroxylase im Lebergewebe (JUSTICE und Mitarbeiter, 1967; KANG und Mitarbeiter, 1970; KAUFMAN und MAX, 1971; FRIEDMAN und Mitarbeiter, 1972; BARTHOLOMÉ und Mitarbeiter, 1975; KAUFMAN und MAX, 1975; TOURIAN und SIDBURY, 1978). Die

kinetischen Eigenschaften des Enzyms unterscheiden sich deutlich vom Enzym gesunder Menschen und offenbar auch von dem Enzym der Patienten mit der klassischen Phenylketonurie: Der K_M -Wert für Phenylalanin ist um etwa 50% niedriger als der K_M -Wert des Enzyms gesunder Menschen (KANG und Mitarbeiter, 1970; KAUFMAN und MAX, 1971; FRIEDMAN und Mitarbeiter, 1972). Auch die Aktivitätssteigerung durch Lyssolezithingabe in Anwesenheit von 5,6,7,8-Tetrahydrobiopterin ist deutlich geringer als beim Enzym gesunder Menschen (FRIEDMAN und Mitarbeiter, 1972). Patienten mit dieser Form (Hyperphenylalaninämie) haben unter normaler Proteinzufuhr jenseits der Neugeborenenperiode Phenylalaninkonzentrationen im Plasma zwischen 0,6 und 1,5 mM (WOOLF und Mitarbeiter, 1968; KANG und Mitarbeiter, 1970; BLASKOVICS, 1973; SCRIVER und ROSENBERG, 1973; BLASKOVICS, 1974). Sie haben eine größere Toleranz gegenüber der zugeführten Phenylalaninmenge und zeigen normale oder gering erhöhte Phenylalaninkonzentrationen, wenn sie zwischen 0,36 und 0,9 mMol Phenylalanin/kg Körpergewicht pro Tag zu sich nehmen (BLASKOVICS, 1973).

1.3.2.3. Verminderte Hydroxylase-Aktivität bei Heterozygoten

Heterozygote für beide Varianten des Phenylalaninhydroxylase-Defekts haben unter normaler Proteinzufuhr postabsorptiv normale Plasmaphenylalanin-

konzentrationen (HSIA und Mitarbeiter, 1965; BERRY und Mitarbeiter, 1957; JERVIS, 1960; BREMER und NEUMANN, 1966 a; RAMPINI und Mitarbeiter, 1969; BLAU und Mitarbeiter, 1973). Bei anderen Untersuchungen wurden, statistisch gesehen, gering erhöhte Werte gemessen, jedoch fand sich immer auch eine starke Überschneidung mit den Werten von Normalpersonen (KNOX und MESSINGER, 1958; LIPPMAN und Mitarbeiter, 1960; PERRY und Mitarbeiter, 1967; WOOLF und Mitarbeiter, 1967; ROSENBLATT und SCRIVER, 1968; CUNNINGHAM und Mitarbeiter, 1969; KANG und Mitarbeiter, 1970; FARRIAUX und DELABRE, 1972; PARTINGTON und VICKERY, 1974; WESTWOOD und RAINE, 1975; JAGENBURG und Mitarbeiter, 1977a). Aktivitätsbestimmungen der Phenylalanin-Hydroxylase aus Lebergewebe von Heterozygoten für Phenylketonurie sind bisher nicht publiziert worden. Überraschend niedrige Enzymaktivitäten wurden im Lebergewebe von Eltern von Patienten mit Hyperphenylalaninämie gefunden. Die homozygoten Patienten hatten eine Hydroxylase-Aktivität von 2,7 - 4,7% des Normalwertes (die Plasma-Phenylalaninkonzentrationen lagen zwischen 0,48 und 0,91 mM unter Normalkost), es bestand eine normale Intelligenz. Bei den 6 untersuchten Heterozygoten (Eltern der Patienten mit Hyperphenylalaninämie; normale Plasma-Phenylalaninkonzentrationen morgens im Nüchternzustand) lag die Hydroxylaseaktivität im Vergleich zu der von Kontrollpersonen zwischen 4,4 und 23% mit einem Mittelwert von 10%. Erstaunlicherweise bestand eine negative Korrelation zwischen postabsorptiver Plasma-Phenylalaninkonzentration und prozentualer Enzymaktivität: Der Heterozygote mit der höchsten Rest-

aktivität (23%) hatte die höchste Phenylalaninkonzentration (0,116 mM), während der Proband mit der geringsten Restaktivität (4,4%) die niedrigste Phenylalaninkonzentration (0,026 mM) aufwies (KANG und Mitarbeiter, 1970; KAUFMAN und MAX, 1975). Die Zahl der untersuchten Patienten und der Heterozygoten ist zu klein, um gültige Daten für andere Patienten und Heterozygote herzuleiten. Offenbar reicht die gegenüber Normalpersonen deutlich reduzierte Hydroxylaseaktivität bei diesen Heterozygoten aus, um die Phenylalaninkonzentrationen im Plasma und wahrscheinlich auch in den Zellen in einem normalen Bereich zu halten.

1.3.3. Phenylalaninverwertung

Aus der Phenylalanintoleranz der Patienten mit Phenylketonurie läßt sich herleiten, daß der Phenylalaninbedarf für die Proteinsynthese beim erwachsenen Individuum etwa 0,06 - 0,12 mMol/kg Körpergewicht täglich beträgt. Der Anteil des Phenylalaninbedarfs für die Proteinsynthese in der Relation zur Phenylalaninzufuhr gesunder Erwachsener (Proteinzufuhr 0,8 - 1,2 g/kg, Phenylalanningehalt im Nahrungsprotein etwa 0,30 mMol/g Protein) läge demnach bei etwa 25 - 30%. Somit würden dreiviertel des aus der Nahrung in das Blut bzw. die Extrazellulärflüssigkeit gelangenden Phenylalanins durch die Aktivität der Phenylalaninhydroxylase eliminiert. Bilanzuntersuchungen haben ergeben, daß 70 - 75% der normalerweise notwendigen täglichen Phenylalaninzufuhr

beim Erwachsenen durch Tyrosin ersetzbar sind (ROSE, 1949; ROSE und Mitarbeiter, 1955). Auch dieser Wert spricht dafür, daß etwa 75% des täglich aufgenommenen Phenylalanins abgebaut werden.

Bei Ratten, denen die 1 1/2-fache Menge der täglichen Phenylalaninzufuhr als einmalige Belastung gegeben worden war, war der Anteil des durch das Hydroxylasesystem metabolisierten Phenylalanins etwa 75%. 17% der gegebenen Menge waren unverändert im Körper verblieben (HALEY und HARPER, 1978).

1.4. Pharmakokinetik

Die Gesetzmäßigkeiten der Konzentrationsabläufe im Organismus nach Applikation von Substanzen sind seit langem Gegenstand experimenteller und theoretischer Untersuchungen (WIDMARK und TANDBERG, 1924; HENDERSON und HAGGARD, 1925; HENDERSON, 1926; TEORELL, 1937; v.BERTALANFFY, 1940; DOST, 1949; WAGNER und NORTHAM, 1967; RIEGELMAN und Mitarbeiter, 1968 a; GIBALDI und Mitarbeiter, 1969; AUB und WATERLOW, 1970; MAYERSON und GIBALDI, 1971; u.a.). Die theoretischen und praktischen Erkenntnisse haben als Pharmakokinetik (DOST, 1953; 1968; GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977) Eingang in die Analytik gefunden.

1.4.1. Fließgleichgewicht

Die Pharmakokinetik beschreibt jene Vorgänge, die sich bei der Auseinandersetzung des Organismus mit einer ihm einverlebten Substanz abspielen

(DOST, 1953). Sie bezieht ihre Daten aus der Messung von Konzentrationsabläufen in Verteilungsräumen, in die sich die Substanz mehr oder weniger gleichmäßig verteilt (Kompartimente). Als besonders geeignet wird das Blut angesehen, da es einmal als wichtigstes Transportorgan fungiert und damit alle Vorgänge des Stoffumsatzes widerspiegelt. Zum zweiten steht es im ständigen Austausch mit der interstitiellen Flüssigkeit und weist eine genügende Homogenität für viele in sie eingebrachte Substanzen auf. Zum dritten ist es zur Untersuchung leicht zu gewinnen und ermöglicht damit pharmakokinetische Untersuchungen am Menschen. Die dabei gewonnenen Daten sind einer mathematischen Interpretation, die allgemeine und spezielle Beziehungen zwischen einer Substanz und dem Organismus aufzudecken hilft (DOST, 1968), zugänglich.

1.4.1.1. Störung des Fließgleichgewichts

Viele körpereigene Substanzen werden im Organismus in einer gleichmäßigen Konzentration gehalten (Homöostase). Dieser Gleichgewichtszustand wird als Fließgleichgewicht (v. BERTALANFFY, 1940) bezeichnet. Der Organismus wird gegenüber einer Störung dieses Gleichgewichts Kräfte entwickeln, dieses Gleichgewicht wieder herzustellen, und zwar umso nachhaltiger, je größer diese Störung ist (WILDER, 1931).

1.4.1.2. Elimination

Als Maßstab für eine Störung zu einer beliebigen Zeit t kann die Blutspiegelerhöhung einer Substanz $y_t - y_x$ (y_t = Konzentration zum Zeitpunkt t , y_x = Konzentration im Fließgleichgewicht) angesehen werden.

Die Wiederherstellung des Gleichgewichtszustandes wird erreicht durch die fortlaufende Konzentrationsminderung

$$- d (y_t - y_x)$$

der Substanz im Organismus (Elimination)).

Der Zeitpunkt des Erreichens des Gleichgewichtszustandes wird bestimmt durch die Geschwindigkeit der Konzentrationsminderung

$$\frac{- d (y_t - y_x)}{dt}$$

bis zum Zeitpunkt $y_t = y_x$, d.h. $\frac{-d(y_t - y_x)}{dt} = 0$.

1.4.1.3. Eliminationskonstante

Geht man davon aus, daß die Verteilung einer zum Zeitpunkt $t = 0$ eingegebenen Substanz in dem Raum, aus dem sie eliminiert wird, abgeschlossen ist, dann ist die Geschwindigkeit des Konzentrationsabfalls in diesem Raum in bestimmten Konzentrationsbereichen der Substratkonzentration proportional:

$$\frac{d(y_t - y_x)}{dt} = \text{const.} \cdot (y_t - y_x) \quad (1)$$

Nach Integration (Integrationsgrenzen $t_1=0$, $t_2=\infty$) ergibt sich:

$$y_t - y_x = (y_0 - y_x) \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (2)$$

oder

$$y_t = y_x + (y_0 - y_x) \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (3)$$

y_0 = Substanzkonzentrations zum Zeitpunkt $t = 0$
des Konzentrationsabfalls.

1.4.2. Elimination 1. Ordnung

Die Konstante k_2 wird als Eliminationskonstante bezeichnet und wurde als ein Maß für die Geschwindigkeit der Elimination der betreffenden Substanz angesehen (DOST, 1968). Wird ein derartiger Konzentrationsverlauf in ein lineares Koordinatensystem eingetragen, so ergibt sich eine abfallende Kurve entsprechend einer Funktion erster Ordnung. In halb-logarithmischer Darstellung (Ordinate logarithmisch geteilt) erhält man eine Gerade, deren Funktionsgleichung ebenso durch Logarithmieren von Gleichung (2) mathematisch ermittelt werden kann:

$$\ln (y_t - y_x) = \ln (y_0 - y_x) - k_2 \cdot t \quad (4)$$

(GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977)

Hierfür können die Rechenvorschriften für die lineare Regression angewendet werden, bei der die Summe der Abweichungen der Meßpunkte von dieser Geraden gleich Null, die Summe der Abweichungsquadrate ein Minimum gesetzt wird.

Die Substanzkonzentration y_0 stellt eine fiktive Größe dar; sie würde zum Zeitpunkt der vollständigen Verteilung vorliegen, wenn noch kein Konzentrationsabfall stattgefunden hat.

1.4.2.1. Halbwertszeit

Aus der Konstanten k_2 läßt sich die Halbwertszeit $t_{50\%}$, in der die Substratkonzentration im betrachteten Kompartiment auf die Hälfte des jeweils betrachteten Wertes abfällt (DOST, 1949), ermitteln:

$$t_{50\%} = \frac{\ln 2}{k_2} \quad (5)$$

1.4.2.2. Verteilungsvolumen

Voraussetzung für einen Konzentrationsverlauf erster Ordnung ist, daß sich die Substanz in einem Raum, aus dem sie entfernt wird, gleichmäßig verteilt hat (DOST, 1968). Dieses Verteilungsvolumen (SEKULA, 1943) der betreffenden Substanz ist fiktiv (DOST, 1968) insofern, als es nicht an irgendwelche anatomischen Grenzen gebunden ist und ein Verteilungsgleichgewicht, nicht jedoch ein Konzentrationsgleichgewicht, voraussetzt (Pseudogleichgewicht).

Untersuchungen z.B. mit Chemotherapeutica haben allerdings ergeben, daß der Gesamtgehalt dieser Substanzen zwischen den verschiedenen Flüssigkeitsräumen zwar mit deren Eiweißgehalt variiert, daß aber die Konzentration freier Moleküle in der

wässrigen Phase dieser Räume überall die gleiche ist (DETTLI, 1961).

Die Größe des Verteilungsvolumens unter der fiktiven Annahme der überall herrschenden Konzentrationsgleichheit läßt sich nach der Mischungsregel berechnen:

$$V = \frac{D}{y_o - y_x}$$

D = gegebene Menge einer Substanz

y_o = Konzentration der Substanz im Plasma im Pseudogleichgewicht (vor Beginn des Konzentrationsabfalls)

1.4.2.3. Relatives Verteilungsvolumen

Bezieht man dieses Verteilungsvolumen auf das Körpergewicht des zu untersuchenden Organismus, erhält man eine gleichfalls fiktive, dimensionslose Größe, den Plasma-Distributionskoeffizienten (KRÜGER-THIEMER, 1961) oder das relative Verteilungsvolumen (DOST, 1968):

$$AV = \frac{D}{(y_o - y_x) \cdot W} \quad W = \text{Körpergewicht (6)}$$

1.4.2.4. Totale Clearance

Erfolgt die Zufuhr einer Substanz in ein Kompartiment nicht kurzzeitig durch z.B. eine intravasale Injektion, sondern über einen längeren Zeitraum, z.B. durch eine intravenöse Dauerinfusion, so wird pro Zeiteinheit stets die gleiche Menge in dieses Kompartiment einströmen. Gleichzeitig wird die

Elimination der Substanz aus dem Kompartiment erfolgen, und zwar umso schneller, je höher die Konzentration der Substanz ansteigt, da anfangs die Zufuhr die Elimination überwiegt. Der Konzentrationsverlauf ergibt eine ansteigende Kurve, die asymptotisch einer konstanten Endkonzentration der Substanz zustrebt. Ist dieser Zeitpunkt erreicht, wird die Einströmgeschwindigkeit in das Kompartiment gleich der Ausströmgeschwindigkeit sein. Analog dazu kann man das bestehende Gleichgewicht einer körpereigenen Substanz auffassen. Änderungen der Einströmgeschwindigkeit werden mit einer proportional dazu sich einstellenden Gleichgewichtskonzentration einhergehen; deshalb ist

$$v = y_x \cdot \text{const.}$$

v = Einströmgeschwindigkeit

y_x = Konzentration im Fließgleichgewicht

Die Konstante hat die Dimension $[\text{ml} \cdot \text{t}^{-1}]$. Sie ist offenbar jenes fiktive Volumen, das im Fließgleichgewicht (beim Durchfluß durch die an der Elimination der Substanz beteiligten Organe) je Zeiteinheit von diesem Stoff befreit wird (DOST, 1953), die totale Clearance.

Somit wird

$$v = y_x \cdot Cl_{\text{tot}} \quad (7)$$

Nach DOST (1953) ist die totale Clearance einer Substanz das Produkt aus dem Verteilungsvolumen

und der Eliminationskonstanten: $Cl_{tot} = V \cdot k_2$;
danach kann Gleichung (7) so formuliert werden:

$$v = y_x \cdot V \cdot k_2 \quad (8)$$

1.4.2.5. Austauschbarer Pool

Der Ausdruck $y_x \cdot V$ gibt dabei den Bestand der Substanz im Verteilungsvolumen wieder, wenn sich bei gleicher Einström- und Ausströmgeschwindigkeit ein Konzentrationsgleichgewicht eingestellt hat.

Diese Größe wird leicht austauschbarer Pool der betreffenden Substanz genannt:

$$Pl = y_x \cdot V \quad (9)$$

1.4.2.6. Transfer

Der Ausdruck $y_x \cdot V \cdot k_2$ oder $Pl \cdot k_2$ ist dabei mit jener Substanzmenge identisch, die während des Fließgewichtes in den Bestand des Verteilungsvolumens eintritt und diesen wieder verläßt, und wird Transfer genannt (DOST, 1953):

$$Tf = Pl \cdot k_2 \quad (10)$$

1.4.3. Kompartiment

Der Verteilungsraum, in dem eine Substanz sich gleichmäßig und rasch verteilt, kann eine Fraktion des Verteilungsvolumens sein und wird Kompartiment genannt. Für bestimmte Substanzen, wie z.B. Thiosulfat, erscheint das Verteilungsvolumen als ein einziges Kompartiment (der extrazelluläre

Flüssigkeitsraum)(SCHWAB und Mitarbeiter, 1963). Andererseits kann sich eine Substanz gleichzeitig oder nacheinander mit unterschiedlicher Geschwindigkeit in mehrere Kompartimente verteilen und in diesen hinsichtlich des Erreichens eines Fließgleichgewichtes jeweils einer unterschiedlichen Kinetik gehorchen (DOST, 1968).

1.4.3.1. Kompartiment-Modelle des Konzentrationsverlaufs

Ein einheitliches Kompartiment im strengen Sinn stellt der intravasale Raum dar, während extravasale Kompartimente anatomisch und histologisch durchaus verschiedenen Organen zugeordnet sein können und in ihrer Eigenschaft als Volumina fiktive Gebilde sind. Durch Verfolgung der Konzentrationsabläufe im reellen Kompartiment Kreislauf-
flüssigkeit lassen sich jedoch indirekt Schlüsse über simultane oder nachgeschaltete Vorgänge ziehen. Geht man von der intravasalen Applikation einer Substanz aus, läßt sich im einfachsten Fall ein Kompartimentsystem aufstellen, das aus dem Eingangskompartiment und einem Ausgangskompartiment besteht (RIEGELMAN und Mitarbeiter, 1968). Findet die Verteilung einer Substanz mit ausreichend großer Geschwindigkeit statt, treten Eingangs- und Ausgangs-Kompartiment summarisch wie ein einheitlicher Verteilungsraum in Erscheinung und die Elimination läßt sich mit Gleichung (2) bzw. (3) beschreiben.

1.4.3.2. 2-Kompartiment-Modell

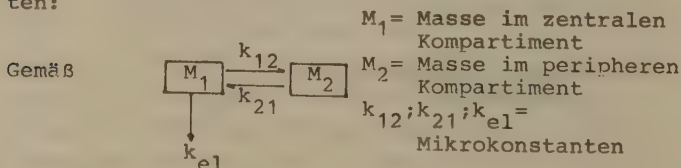
Nimmt der Verteilungsvorgang jedoch längere Zeit in Anspruch, kommt es zu einem zweiphasischen Kon-

zentrationsablauf: Die erste Phase wird durch Verteilung der Substanz zwischen den Kompartimenten und durch Elimination bestimmt, während die zweite Phase überwiegend durch Elimination und Rückverteilung geprägt ist. Unter der Voraussetzung, daß der Konzentrationsverlauf im Blut bei Mehrkompartimentsystemen als Summe von einzelnen e-Funktionen entsprechend der Anzahl n relevanter Kompartimente zu beschreiben ist, gilt allgemein:

$$y = \sum_{i=1}^n C_i \cdot e^{-\gamma_i \cdot t} \quad (11)$$

(RIEGELMAN und Mitarbeiter, 1968 a;
GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977)

Hierbei sind C_i und γ_i Konstanten, die formal der fiktiven Anfangskonzentration y_0 und der Eliminationskonstanten k_2 der Gleichungen (2) bzw. (3) entsprechen, jedoch bei Betrachtung der Kinetik zwischen mehreren Kompartimenten zusammengesetzte Größen infolge gegenseitiger Wechselwirkung der Kompartimente darstellen (Hybridkonstanten) (RIEGELMAN und Mitarbeiter, 1968 a). Zur mathematischen Darstellung eines 2-Kompartimentmodells nach intravasaler Applikation der Substanz kann man die Gleichung des Konzentrationsverlaufs folgendermaßen herleiten:



erhält man die Massenbilanzgleichungen

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} M_1 \\ M_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -k_{12}-k_{e1}+k_{21} \\ k_{12} & -k_{21} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} M_1 \\ M_2 \end{pmatrix} \quad ;$$

die Auflösung ergibt:

$$M_1(t) = M_1(0) \left\{ e^{-b_1 t} \frac{k_{21}-b_1}{b_2-b_1} + e^{-b_2 t} \frac{k_{21}-b_2}{b_1-b_2} \right\}$$

und

$$\begin{aligned} -b_1 &= -\frac{1}{2} (k_{12}+k_{21}+k_{e1}) + \frac{1}{2} \sqrt{(k_{12}+k_{e1}-k_{21})^2 + 4k_{12}k_{21}} \\ -b_2 &= -\frac{1}{2} (k_{12}+k_{21}+k_{e1}) - \frac{1}{2} \sqrt{(k_{12}+k_{e1}-k_{21})^2 + 4k_{12}k_{21}} \end{aligned}$$

(b_1 ; b_2 = Eigenwerte des Differential-Gleichungssystems)

und damit den Konzentrationsverlauf im 2-Kompartimentmodell.

$$y(t) = C_1 e^{-\gamma_1 t} + C_2 e^{-\gamma_2 t} = y_I + y_{II} \quad (12)$$

C_1 = fiktive Anfangskonzentration des Verlaufs y_I

γ_1 = Geschwindigkeitskonstante des Verlaufs y_I

C_2 = fiktive Anfangskonzentration des Verlaufs y_{II}

γ_2 = Geschwindigkeitskonstante des Verlaufs y_{II}

Bei Gleichung (12) wird formal wie bei der Aufstellung konvergenter Reihen vorgegangen, indem man das größte Glied an den Anfang setzt. Danach muß γ_1 kleiner sein als γ_2 .

1.4.3.3. Biologische Halbwertszeit

Unterscheiden sich γ_1 und γ_2 um mehr als den Faktor 2,5 (DOST, 1968), so ist bei graphischer Darstellung im halblogarithmischen Raster ein biexponentieller Kurvenverlauf erkennbar. Bei ausreichend großem γ_2 tritt nach einiger Zeit ein monoexponentieller Verlauf des Konzentrationsabfalls ein, da der Prozeß mit großem γ rascher gegen 0 strebt. Aus diesem monoexponentiellen Verlauf läßt sich

$$t_{50\%} = \frac{\ln 2}{\gamma_1} \quad (13)$$

angeben. Diese als biologische Halbwertszeit (GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977) bezeichnete Größe charakterisiert den Konzentrationsverlauf der Substanz im gesamten Verteilungsvolumen, nachdem sich die Konzentrationen in den einzelnen Kompartimenten angeglichen haben.

1.4.3.4. Abschälen ("feathering")

Die Eliminationskurve des Verlaufs y_1 wird im halblogarithmischen Raster durch

$$\ln y_I = \ln C_1 - \gamma_1 \cdot t$$

ausgedrückt, aus der sich C_1 und γ_1 ermitteln lassen. Die Differenz

$$y_{II} = y(t) - C_1 \cdot e^{-\gamma_1 \cdot t} = C_2 \cdot e^{-\gamma_2 \cdot t} \quad (14)$$

liefert im Bereich der Werte $y(t)$, die nicht auf der Geraden $\ln y_I$ liegen, die Parameter C_2 und γ_2 und damit eine zweite Gerade im halb-logarithmischen Raster, die dem schnellen Verlauf y_{II} entspricht. Durch dieses als sukzessives Abschälen (GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977) bezeichnete Verfahren läßt sich auch beim Mehrkompartimentmodell der Konzentrationsverlauf hinreichend charakterisieren. Die Anzahl der abzuschälenden Einzelverläufe darf dabei nicht zu groß sein. Dieser biexponentielle Konzentrations-

verlauf ist charakteristisch für zahlreiche, wenn nicht alle endogenen Substanzen im Körper, deren natürliches Fließgleichgewicht im stoßkinetischen Sinne gestört wurde (RIEGELMAN und Mitarbeiter, 1968 a, b).

Abbildung 2 gibt eine Modellvorstellung der Konzentrationsverläufe bei Verteilung einer Substanz in ein zentrales Kompartiment C_{p1} und ein Seitenkompartiment C_{p2} wieder. Durch Abschälen eines schnellen Verlaufs $C_2; \gamma_2$ mit der Anfangskonzentration A und der Steigung α wird ein langsamer Verlauf $C_1; \gamma_1$ mit der Anfangskonzentration B und der Steigung β sichtbar, der dem Konzentrationsverlauf im gesamten Verteilungsraum mit der biologischen Halbwertszeit

$$t_{50\%} = \frac{\ln 2}{\beta} \quad \text{entspricht.}$$

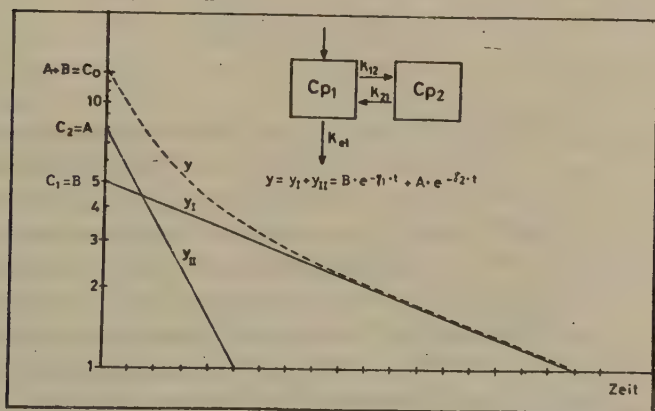


Abb. 2: Biexponentieller Konzentrationsverlauf mit dem schnellen Verlauf y_{II} und dem langsameren Verlauf y_I und Darstellung des zugehörigen offenen 2-Kompartimentmodells (zentrales Kompartiment C_{p1} ; peripheres Kompartiment C_{p2} ; Geschwindigkeitskonstante k_{12} des Ausstroms aus dem zentralen Kompartiment; Geschwindigkeitskonstante k_{21} des Einstroms in das zentrale Kompartiment und Geschwindigkeitskonstante k_{e1} der reinen Elimination aus dem zentralen Kompartiment).

1.4.3.5. Verteilung und reine Elimination

Mit dem o.g. Differentialgleichungssystem (S. 39) und nach Transformierung der Eliminationsgleichung (12) (MAYERSOHN und GIBALDI, 1971) lassen sich die Mikrokonstanten k_{12} , k_{21} und k_{el} berechnen nach

$$k_{21} = \frac{A \cdot \beta + B \cdot \alpha}{A + B} \quad (15)$$

$$k_{el} = \frac{\alpha \cdot \beta}{k_{21}} \quad (16)$$

und

$$k_{12} = \alpha + \beta - k_{21} - k_{el} \quad (17)$$

Dabei bedeutet k_{12} die Geschwindigkeitskonstante für den Abstrom aus dem zentralen Kompartiment in ein Seitenkompartiment, k_{21} die Konstante für den Rückstrom aus einem Seitenkompartiment in das zentrale Kompartiment und k_{el} die Konstante für die reine Elimination aus dem zentralen Kompartiment. Hieraus wird nochmals deutlich, daß der Konzentrationsverlauf einer Substanz im Plasma aus einer komplexen Verknüpfung mehrerer Einzelprozesse mit unterschiedlichem Verlauf resultiert. Bei Vorliegen eines 2- oder Mehrkompartimentmodells müssen die Einzelprozesse für die Berechnung der oben erwähnten pharmakokinetischen Parameter berücksichtigt werden, da sonst deren Abschätzung mit einem größeren Fehler behaftet ist (RIEGELMAN und Mitarbeiter, 1968b; GIBALDI und Mitarbeiter, 1969).

1.4.3.6. Zentrales Verteilungsvolumen

Verteilt sich eine Substanz in mehrere Kompartimente, so ist das gesamte Verteilungsvolumen im Gleichgewichtszustand V_{ss} gleich der Summe der Kompartimente.

Zur Zeit $t = 0$, bei der sich aus Gleichung (11) die fiktive Anfangskonzentration

$$y_0 = \sum C_i \quad \text{berechnen lässt,}$$

hat die Substanz den Raum des zentralen Kompartiments eingenommen. Dieses zentrale Verteilungsvolumen V_c beträgt

$$V_c = \frac{D}{\sum C_i} \quad (18)$$

und ist bei intravasaler Applikation im kleinsten denkbaren Fall das Plasmavolumen (GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977), bei rascher Verteilung nach extravasal das Extrazellulärvolumen. Die Größe dieses Raumes bei Erwachsenen liegt bei etwa 18% der Körpermasse (Thiosulfatraum, DOST, 1968), während der Gesamtkörperwasser-Raum bei Männern (17 - 34 Jahre) etwa 61%, bei Frauen etwa 51% der Gesamtkörpermasse beträgt (D_2O -Methode, EDELMAN und Mitarbeiter, 1952).

1.4.3.7. Gesamtverteilungsvolumen, Clearance, pool und Transfer

Nach dem Flächensatz (DOST, 1968) ist die totale Clearance

$$Cl_{tot} = \frac{D}{\sum \frac{C_i}{y_i}} \quad (19) \quad \begin{array}{l} D = \text{applizierte} \\ \text{Dosis} \end{array}$$

und das Verteilungsvolumen im Gleichgewicht

$$V_{ss} = D \cdot \frac{\sum \frac{C_i}{y_i^2}}{\left(\frac{\sum C_i}{\sum y_i} \right)^2} \quad (20)$$

oder

$$V_{ss} = \frac{Cl_{tot}^2}{D} \cdot \sum \frac{C_i}{y_i^2}$$

(GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977)

Daraus lassen sich der austauschbare pool und der Transfer nach

$$Pl = y_x \cdot V_{ss} \quad (21)$$

und

$$Tf = Cl_{tot} \cdot y_x \quad (22)$$

berechnen.

1.4.4. Invasion

Wie weiter oben ausgeführt, stellt sich bei konstanter Zufuhr einer Substanz ein Konzentrationsgleichgewicht im gesamten Verteilungsvolumen ein. Würde der Zustrom plötzlich unterbrochen, z.B. durch Beendigung einer Dauerinfusion nach Erzielung eines künstlichen Fließgleichgewichts, dann träte ein exponentieller Konzentrationsabfall entsprechend

$$y_x' \cdot e^{-k_2 \cdot t}$$

ein (y_x' = Konzentration im künstlichen Fließgleichgewicht).

Die Differenzfunktion

$$y_{\text{Inf}} = y'_x - y'_x \cdot e^{-k_2 \cdot t} \quad (23)$$

beschreibt danach den Blutspiegelverlauf von Beginn der Infusion bis zum Erreichen des neuen Fließgleichgewichtes y'_x . Für y'_x läßt sich nach Gleichung (8) der Ausdruck

$$\frac{v}{V \cdot k_2}$$

einsetzen:

$$y_{\text{Inf}} = \frac{v}{V \cdot k_2} (1 - e^{-k_2 \cdot t}) \quad (24)$$

(TEORELL, 1937)

Betrachtet man die Gleichung (2) bzw. (3) sowie (23) und (24), so könnte gefolgert werden, daß für einige Substanzen in einem bestimmten Konzentrationsbereich die Eliminationskonstante sowohl durch Konzentrationsbestimmungen nach einfacher Injektion, während einer Dauerinfusion bis zu einem künstlichen Fließgleichgewicht und nach Abbruch dieser Infusion bestimmt werden kann, sofern hierfür die Elimination aus dem zentralen Kompartiment berücksichtigt wird. Daß hierbei identische Werte für k_2 erhalten werden, konnte auf mathematischem Wege (DOST, 1968) und experimentell (GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977)

für einige Substanzen gezeigt werden. Darüberhinaus müßte der Konzentrationsablauf nach Injektion einer körpereigenen Substanz beim natürlichen oder

bei einem künstlich erhöhten Fließgleichgewicht identisch sein, wenn die Geschwindigkeit der Elimination in den betrachteten Konzentrationsbereichen stets proportional der augenblicklichen Substanzkonzentration wäre.

1.4.5. Exzeß-Kurve

Bei der mathematischen Auswertung von Eliminationskurven müssen die Konzentrationen im natürlichen oder künstlichen Fließgleichgewicht beachtet werden, da nur die Kurve der Konzentrationserhöhung ($y_o - y_x$ bzw. $y_o - y'_x$) über den Ausgangswert (y_x bzw. y'_x) einen exponentiellen Verlauf hat (DOST, 1968; GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977). Damit ist es möglich, für eine körpereigene Substanz im natürlichen Fließgleichgewicht das Verteilungsvolumen, die totale Clearance, den leicht austauschbaren Pool und den Transfer durch eine einmalige Injektion zu bestimmen. Allerdings muß die jeweilige Kinetik unterschiedlicher Kompartimente berücksichtigt werden durch Bestimmung des Kompartimentmodells.

Vorteilhaft erscheint die intravasale Applikation einer Substanz als Störung des Gleichgewichts, da hierbei die Berücksichtigung solcher Vorgänge wie Resorption (intestinal, transzellulär), Diffusion und Transport durch das Blut, zusammengefaßt unter dem Begriff Invasion (DOST, 1953), nicht notwendig ist (GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977).

1.4.6. Eliminationskapazität

Die dargestellten Prozesse verlaufen exponentiell, soweit die an der Elimination beteiligten Mechanismen im Organismus kein Kapazitätsmaximum in einem gewählten Konzentrationsbereich aufweisen. Wird bei Systemen mit begrenzter Kapazität die Substanzmenge laufend erhöht, nähert sich die Eliminationsgeschwindigkeit einem Maximum und überschreitet auch bei steigender Substanzmenge diesen Wert nicht.

1.4.6.1. Kapazitätsmaximum

Die Geschwindigkeit z.B. enzymatischer Reaktionen oder des aktiven Transports durch Zellmembranen (s.o.) ist bekanntlich substratkonzentrationsabhängig und maximal, wenn das Enzym oder Transportsystem substratgesättigt ist. Nach MICHAELIS und MENTEN (1913) läßt sich die Kinetik mathematisch ausdrücken durch

$$- \frac{dy}{dt} = \frac{V_{\text{Max}} \cdot y}{K_M + y} \quad (26)$$

V_{Max} = maximale Reaktionsgeschwindigkeit

y = Substratkonzentration zur Zeit t

K_M = Substratkonzentration bei halbmaximaler Reaktionsgeschwindigkeit.

1.4.6.2. Sättigungsphänomen

Es liegt nahe, dieses Verhalten auch auf Eliminationsprozesse, die ein Konzentrationsmaximum aufweisen, zu übertragen. Hierbei ist V_{Max} als virtuelle Größe die maximale Eliminationsgeschwindigkeit und K_M diejenige Substratkonzentration, bei der die Eliminationsgeschwindigkeit die Hälfte der maximal möglichen ist (PAUMGARTNER, 1975). Vergleicht man die MICHAELIS-MENTEN-Gleichung (26) mit der Geschwindigkeitsgleichung für Eliminationsprozesse (monoexponentieller Verlauf)

$$- \frac{dy}{dt} = k_2 \cdot y$$

so wird deutlich, daß bei hohen K_M -Werten gegenüber y sich die Ausdrücke etwa gleichen, d.h.

$$\frac{V_{\text{Max}}}{K_M} \sim k_2$$

Ist im anderen Fall für eine Substanz K_M verhältnismäßig klein gegenüber der gemessenen Konzentration y , so wird

$$-\frac{dy}{dt} \sim V_{\text{Max}}$$

Hier läuft die Elimination unabhängig von der Substanzkonzentration mit stets gleicher Geschwindigkeit ab. Dieser Prozeß wird eine Reaktion nullter Ordnung genannt und wurde erstmals experimentell bei der Elimination des Äthanolis (WIDMARK und TANDBERG, 1924) in einem höheren Konzentrationsbereich gefunden.

Im linearen Koordinatensystem hat diese Konzentrations-Zeitkurve den Verlauf einer Geraden. Pro Zeiteinheit wird stets der gleiche Betrag eliminiert. Die Eliminationskonstante und damit die Eliminationsgeschwindigkeit werden mit steigender Substanzkonzentration gemäß

$$k_2 \cdot y = V_{\text{Max}} = \text{const.} \quad (30)$$

oder

$$y = \frac{V_{\text{Max}}}{k_2}$$

immer kleiner.

1.4.6.3. Sättigungskinetik

Dieses als Sättigungskinetik bezeichnete Verhalten wurde experimentell für die Elimination des Indocyanin-Grüns, das selektiv durch die Leber eliminiert wird (HUNTON und Mitarbeiter, 1961; PAUMGARTNER und Mitarbeiter, 1970; PAUMGARTNER, 1975; HEIMANN und ROTH, 1975; HEIMANN und Mitarbeiter, 1977) und für das Antibioticum Rifamycin (FREZZA, 1979) gefunden.

Im linearen Konzentrationsverlauf einer Substanz während der initialen Elimination ist die Ge-

schwindigkeit entsprechend Gleichung (27) gleich dem Produkt aus der Eliminationskonstanten k_2 und der fiktiven Anfangskonzentration der Substanz bzw. der verabreichten Dosis D:

$$v_o = k_2 \cdot D \quad (31)$$

(PAUMGARTNER, 1975; HEIMANN und Mitarbeiter, 1977)

Durch Ermittlung der initialen Geschwindigkeiten bei Applikation verschiedener Substratmengen lassen sich die maximale Geschwindigkeit (V_{Max}) und die Substratmenge bei halbmaximaler Geschwindigkeit (K_M -Wert) durch Eintragen der Reziprokwerte in ein Koordinatensystem nach LINEWEAVER und BURK (1934) ermitteln (HEIMANN und Mitarbeiter, 1977).

1.5. Pharmakokinetik des Phenylalanins und anderer Aminosäuren

1.5.1. Phenylalaninbelastung

Von den zahlreichen Untersuchungen bei Normalpersonen und Heterozygoten für Phenylketonurie, bei denen Phenylalanin-Konzentrationen im Plasma nach intravenöser oder oraler Phenylalaningabe gemessen wurden, sind nur in einigen wenigen die Kinetiken des Konzentrationsverlaufs und daraus abgeleitete Parameter ermittelt worden. BREMER und NEUMANN (1966a) infundierten bei Erwachsenen 0,24 - 0,36 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht in 5-15 Minuten und bestimmten die Plasmaphenylalaninkonzentrationen in 30-minütigen Abständen bis 3 Stunden nach Beendigung der Phenylalaningabe. Die erhaltenen Konzentrationsverläufe wurden als monoexponentiell angesehen. Aus den Geschwindigkeitskonstanten der Konzentrationsverläufe wurden die Eliminationshalbwertszeiten er-

rechnet. Bei den Heterozygoten für Phenylketonurie war der Konzentrationsverlauf deutlich langsamer. Dieses Verhalten wurde mit einer gegenüber Normalpersonen verminderten Phenylalaninhydroxylase-Aktivität erklärt (BREMER und NEUMANN, 1966 b). Auch in den Untersuchungen von WOOLF und Mitarbeitern (1967; 1968) wurde ein monoexponentieller Konzentrationsverlauf der Plasmaphenylalaninkonzentration gefunden.

Hier wurden 34 Normalpersonen und 31 Heterozygoten für Phenylketonurie jeweils 0,48 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht intravenös injiziert. In 4 Blutproben zwischen der 50. und 225. Minute nach Applikation wurde die Plasmaphenylalaninkonzentration bestimmt. Bei den Heterozygoten war das Verhältnis des Verteilungsraumes für Phenylalanin zum Gesamtkörperwasser-raum etwas geringer als bei Normalpersonen. Die Geschwindigkeitskonstanten des Konzentrationsverlaufs waren bei den Heterozygoten etwa halb so groß wie bei den Normalpersonen und wurden auf eine zur Hälfte verminderte Phenylalaninhydroxylase-Aktivität zurückgeführt. Bei drei Heterozygoten wurde der Konzentrationsverlauf als linear im Sinne einer Reaktion nullter Ordnung angesehen, von den Autoren erklärt durch eine Sättigung des Phenylalanin-Hydroxylase-Systems bei den durch die Phenylalanin-Injektionen erreichten Konzentrationen.

Bei zwei Patienten mit klassischer bzw. leichter Form der Phenylketonurie wurde der Konzentrationsverlauf des Phenylalanins im Plasma zwischen 60 und 360 Minuten nach intravenöser Gabe von 0,24 bzw. 0,32 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht

verfolgt. Die Geschwindigkeit des als monoexponentiell angesehenen Konzentrationsabfalls betrughier weniger als $0,01 \mu\text{M}$ pro Stunde; das relative Verteilungsvolumen für Phenylalanin, bezogen auf die Körpermasse, wurde mit 0,82 bzw. 0,76 (Liter/kg) berechnet (HJALMARSSON und Mitarbeiter, 1971).

Ausführliche kinetische Berechnungen wurden von JAGENBURG und Mitarbeitern (1977 a; 1977 b) aus den Konzentrationsverläufen von intravenös injiziertem Phenylalanin ($0,3 \text{ mMol/kg}$ Körpergewicht) bei Normalpersonen, Phenylketonurie-Heterozygoten und Patienten mit Leber-Zirrhose mitgeteilt. Bei allen drei Gruppen wurden Blutproben in 5-minütigen Abständen in der ersten Stunde und in 10-minütigem Abstand in den folgenden zwei Stunden analysiert. Der Konzentrationsverlauf war biexponentiell mit einem steilen Abfall in den ersten 30 - 50 Minuten und mit einem langsameren Abfall im Anschluß daran. Einige pharmakokinetische Parameter zeigten teilweise deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Probandengruppen.

Monoexponentielle Konzentrationsverläufe des Plasmaphenylalanins mit unterschiedlicher Geschwindigkeit wurden bei Patienten mit verschiedenen schweren Formen der Phenylketonurie im Verlauf einer diätetischen Restriktion der Phenylalaninzufuhr beobachtet (SCHNEIDER, 1973).

Bei Patienten mit klassischer Phenylketonurie, milder und atypischer Hyperphenylalaninämie wurde

der im Anschluß an eine dreistündige Phenylalanininfusion (höchste Plasmaphenylalaninkonzentration 2 - 3 mM) in mehrstündigen Intervallen gemessene Konzentrationsabfall als monoexponentiell angesehen.

Patienten mit postpartaler transitorischer Phenylalaninvermehrung (transitorische Hyperphenylalaninämie) dagegen zeigten einen Ablauf nullter Ordnung. Auch hier wurden die im Vergleich zu Normalpersonen sehr viel niedrigeren Geschwindigkeitskonstanten auf die bei den Patienten stark erniedrigte Phenylalaninhydroxylase-Aktivität zurückgeführt (REY und Mitarbeiter, 1979).

In den Untersuchungen von FELL und Mitarbeitern (1978) sowie TREFZ und Mitarbeitern (1976; 1978), in denen Normalpersonen, Patienten mit Hyperphenylalaninämie und Phenylketonurie eine intravenöse Injektion von jeweils 0,15 mMol/kg bzw. 0,18 mMol/kg Körpergewicht deuteriertes L-Phenylalanin erhielten, wird der Konzentrationsabfall gleichfalls als monoexponentiell angesehen. Auch hier waren Plasmaproben in 30-minütigen Abständen über 3 - 4 Stunden, gerechnet vom Ende der Phenylalaningabe an, analysiert worden. Die bei den Patienten gegenüber Normalpersonen niedrigeren Geschwindigkeitskonstanten des Konzentrationsverlaufs wurden, zusammen mit dem Konzentrationsanstieg des deuterierten Tyrosins im Plasma und der Tyrosinmetaboliten im Urin, als

proportional zur stark erniedrigten oder fehlenden Phenylalaninhydroxylase-Aktivität betrachtet (TREFZ und Mitarbeiter, 1978).

1.5.2. Kinetik markierter Aminosäuren (Tracer-Studien)

Daneben gibt es einige wenige Untersuchungen über den Konzentrationsverlauf radioaktiv markierter Aminosäuren im Plasma und dessen Beeinflussung durch andere Prozesse.

Bei allen diesen Untersuchungen wurden so kleine Mengen gegeben, daß keine Veränderungen des Bestandes und der Konzentrationen der untersuchten Aminosäuren in den Verteilungsräumen des Körpers eintraten.

HENRIQUES und Mitarbeiter (1955) injizierten Kaninchen 0,2 mg ^{14}C -Glycin und verfolgten dessen Konzentrationsverlauf im Plasma, in der Leber und im Muskel zwischen 5 Minuten und 18 Stunden nach Gabe. Sie sahen einen dreiphasischen Abfall im Plasma mit einem schnellen Verlauf in den ersten 30 Minuten, gefolgt von einem langsameren in den nächsten Stunden und einem sehr langsamen zwischen 6 und 18 Stunden nach Beginn der Messung. GRÜMER und Mitarbeiter (1961) untersuchten bei 4 Patienten mit Phenylketonurie nach intravenöser Gabe von 0,25 - 0,34 mg U- ^{14}C -Phenylalanin den Konzentrationsverlauf, den Verteilungsraum und die Umsatzgeschwindigkeit des injizierten ^{14}C -Phenylalanins durch Plasmaanalysen in kurzen Abständen. Der Abfall im Plasma wurde als biexponentiell angesehen. Die Geschwindigkeit dieses Verlaufs war um so langsamer, je höher die Plasma-

Phenylalaninkonzentration bei den 4 Patienten eingestellt war. Das wurde auf eine Verkleinerung des austauschbaren pools zurückgeführt. Etwa 2 - 5% des injizierten ^{14}C -Phenylalanins wurden während der 5 1/2-stündigen Beobachtungsperiode renal ausgeschieden. Die Geschwindigkeit der Konzentrationsänderung im Bestand des freien Glyzins, gemessen am Konzentrationsverlauf von ^{15}N -Glycin im Urin eines Erwachsenen nach Gabe von 4,7 mg/kg Körpergewicht, war ebenfalls biexponentiell (WATTS und CRAWHALL, 1959). Biexponentiell war auch der Konzentrationsverlauf bei 4 gesunden Kindern im Alter zwischen 4 - 4 1/2 Jahren und einem Patienten mit einem Defekt in der Umwandlung von Glyzin in Serin, denen 0,68 μMol 2- ^3H -Glyzin intravenös injiziert und bei denen ausschließlich Plasmaproben in 5 - 10-minütigen Abständen analysiert wurden. Die Größe des austauschbaren Bestandes an Glyzin war bei dem Patienten mit dem Stoffwechseldefekt doppelt so groß wie bei den Kontrollkindern, während die Geschwindigkeit des Glyzinumsatzes bei allen Probanden gleich war (NYHAN und CHILDS, 1964). Aufgrund der Form des Konzentrationsverlaufs von L- ^{14}C -Lysin im Plasma unter einer Dauerinfusion bei Ratten (WATERLOW und STEPHEN, 1967) und beim Menschen (WATERLOW, 1967) wurde für die Verteilung und den Umsatz des freien Lysins ein multiexponentieller Verlauf konzipiert (AUB und WATERLOW, 1970), ebenso für den Konzentrationsverlauf nach Injektion von 10 μg eines Gemisches

von 18 U-¹⁴C-markierten Aminosäuren bei Ratten
(REILLY und GREEN, 1975).

IRVING und Mitarbeiter (1978) injizierten acht
ausgewachsenen Kaninchen intravenös 7 mg
¹⁵N-Glyzin/kg Körpergewicht und analysierten
Plasmaproben in 5-minütigen Abständen bis 45
Minuten nach der Injektion. Sie sahen einen
monoexponentiellen Konzentrationsverlauf des
¹⁵N-Glyzins und bestimmten daraus einige phar-
makokinetische Größen des Glyzins.

1.6. Phenylalanin-Belastungstests

Die Kenntnis stark erhöhter Phenylalaninkonzentrationen bei Patienten mit Phenylketonurie unter normaler Phenylalaninzufuhr führte zu der Überlegung, daß Heterozygote dieser autosomal-rezessiv vererbten Krankheit sich von gesunden Personen durch höhere Phenylalanin-Werte nach Gabe einer größeren Phenylalaninmenge unterscheiden müßten (HSIA und Mitarbeiter, 1956). Ausgehend von diesen ersten Untersuchungen wurden in der Folgezeit zahlreiche Belastungstests mit unterschiedlich großen Phenylalaningaben durchgeführt. HSIA und Mitarbeiter (1956) und BERRY und Mitarbeiter (1957) fanden bei Heterozygoten nach Gabe von 0,6 mmol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht im Mittel doppelt so hohe Plasma-Phenylalanin-Werte wie bei Normalpersonen.

Sie schlossen daraus, daß Phenylketonurie-Heterozygote eine gegenüber Normalpersonen auf die Hälfte reduzierte Phenylalaninhydroxylase-Aktivität haben müßten. Da sich hinsichtlich aller Einzelwerte als auch der Summe aller nach Phenylalaningabe gemessenen Plasmakonzentrationen Überschneidungen zwischen Normalpersonen und Heterozygoten zeigten, war eine exakte Abgrenzung beider Gruppen nicht möglich. Auch in späteren Untersuchungen (RENWICK und Mitarbeiter, 1960; WANG und Mitarbeiter, 1961; SYDNES und FØLLING, 1962; COLOMBO und VASSELLA, 1968; RAMPINI und Mitarbeiter, 1969; CUNNINGHAM und Mitarbeiter, 1969; KANG und Mitarbeiter, 1970; FARRIAUX und DELABRE, 1972; FORD und BERMAN, 1974; 1977) zeigten die zu verschiedenen Zeiten nach der gleichen Phenylalaningabe gemessenen Einzelwerte bzw. Maximalwerte oder

das Verhältnis von Einzelwerten zueinander (BERRY und Mitarbeiter, 1957; MENKES und AVERY, 1961) wechselnd große Überschneidungen zwischen Normalpersonen und Heterozygoten.

Auffällig war, daß der Zeitpunkt der Maximalwerte nach Belastung so sehr differierte. Er schwankte zwischen 45 Minuten (GÜTTLER und HANSEN, 1977) und vier Stunden (JERVIS, 1960; PARTINGTON und VICKERY, 1974) nach Phenylalaningabe. Die Maximalwerte waren in manchen Untersuchungen bei Heterozygoten höher (HSIA und Mitarbeiter, 1956; BERRY und Mitarbeiter, 1957; JERVIS, 1960; SYDNES und FØLLING, 1962; RAMPINI und Mitarbeiter, 1969), zum Teil gleich hoch (GÜTTLER und HANSEN, 1977) oder niedriger als bei Patienten mit leichteren Formen der Phenylketonurie (KANG und Mitarbeiter, 1970). Patienten mit klassischer Phenylketonurie zeigten oft höhere Phenylalaninwerte nach oraler Gabe als Patienten mit leichteren Krankheitsformen (CUNNINGHAM und Mitarbeiter, 1969; KANG und Mitarbeiter, 1970; GÜTTLER und WAMBERG, 1977), teilweise jedoch gleich hohe Werte (RAMPINI und Mitarbeiter, 1974). Andererseits schien die Geschwindigkeit des Konzentrationsverlaufs bei nachträglicher Berechnung zwischen Heterozygoten und Normalpersonen nicht sehr unterschiedlich zu sein. Darauf hatte schon NELSON (1965) hingewiesen. Nach seiner Ansicht haben

Einzelwerte wenig Aussagekraft, die Geschwindigkeit des Konzentrationsverlaufs hingegen könnte ein Parameter für die Phenylalaninhydroxylase-Aktivität sein.

Die Unterscheidung zwischen Heterozygoten und Normalpersonen aufgrund von Phenylalaninbelastungen wurde durch den Einsatz statistischer Verfahren (ANDERSON und Mitarbeiter, 1962; JACKSON und Mitarbeiter, 1971; WESTWOOD und RAINE, 1975), durch intravenöse Phenylalanin-gabe (LIPPMAN und Mitarbeiter, 1960; BREMER und NEUMANN, 1966 a; 1966 b; PERRY und Mitarbeiter, 1967; WOOLF und Mitarbeiter, 1967; 1968; SCHNEIDER, 1973; REY und Mitarbeiter, 1979), durch Berechnung pharmakokinetischer Parameter (BREMER und NEUMANN, 1966 a; 1966 b; WOOLF und Mitarbeiter, 1967; 1968; HJALMARSSON und Mitarbeiter, 1971; SCHNEIDER, 1973; REY und Mitarbeiter, 1979) und durch die Applikation von markiertem Phenylalanin (TREFZ und Mitarbeiter, 1976; 1978; ZAGALAK und Mitarbeiter, 1977; CURTIUS, und Mitarbeiter, 1977) im Laufe der letzten Jahre etwas verbessert. Weitgehend unklar blieben jedoch die Ursachen der diskrepanten Ergebnisse zwischen den einzelnen Untersuchungen. Als mögliche Erklärungen werden Einflüsse des Alters, des Ernährungszustandes und der täglichen Proteinzufuhr bei den Probanden diskutiert (CUNNINGHAM und Mitarbeiter, 1969). Die Regelung des Phenylalanin-gleichgewichts im Körper und ihre Beschreibung

nach physiologischen Gesetzmäßigkeiten wurde bisher jedoch nicht systematisch untersucht. Lediglich JAGENBURG und Mitarbeiter (1977 a) sowie JAGENBURG und RÖDJER (1977) bestimmten, parallel zu den hier vorgelegten Untersuchungen, den Konzentrationsverlauf des Phenylalanins im Plasma nach intravenöser Gabe sowie einige pharmakokinetische Parameter.

2. P R O B L E M S T E L L U N G

Um orale und intravenöse Phenylalanin-Belastungstests hinsichtlich ihrer klinischen Aussagefähigkeit in der Differenzierung Phenylketonurie-Heterozygoter und Normalpersonen beurteilen zu können, ist es notwendig, pharmakokinetische Parameter und physiologische Regulationsprozesse der Phenylalaninkonzentration im Plasma zu kennen.

Aus diesem Grunde wurden in der hier vorgelegten Untersuchung die Konzentrationsverläufe des Phenylalanins im Plasma nach intravenöser Gabe bei Normalpersonen und Phenylketonurie-Heterozygoten systematisch ausgewertet. Dabei wurde die Menge des applizierten Phenylalanins, die Dauer der Gabe und die Lage des Gleichgewichts variiert und die Beeinflussung verschiedener Einzelprozesse des Konzentrationsausgleichs nach Zufuhr von Phenylalanin untersucht.

3. M E T H O D I K

3.1. Vorbemerkung zur Phenylalaninbestimmung im Plasma.

Zur Verfolgung von Konzentrationsabläufen, die einer Kinetik unterliegen, muß die aktuelle Substratkonzentration in dem untersuchten Kompartiment so präzise wie möglich bestimmt werden. Das zur Analyse entnommene Probenvolumen muß möglichst klein sein, so daß keine Schwankungen des Verteilungsvolumens eintreten. Die Probenentnahme muß schnell erfolgen, damit der Entnahmezeitpunkt so genau wie möglich festliegt und Probenentnahmen auch in kurzen Zeitabständen möglich sind. Das entnommene Material, in dem die Substratkonzentration bestimmt werden soll, muß genügend homogen sein und die Substratkonzentration in dem zu analysierenden Verteilungsvolumen repräsentieren. Die Probenentnahme selbst darf nicht zu einer Veränderung des Konzentrationsverlaufs im Verteilungsvolumen durch hormonelle, hämodynamische oder metabolische Einflüsse führen.

3.1.1. Phenylalaninbestimmung im Plasma

Die Bestimmung von Tyrosin und Phenylalanin wurde säulenchromatographisch mit einer Kurzmethode durchgeführt (MECHANIC und Mitarbeiter, 1966). Es wurde der Microanalyzer Typ PKU (the Virtis

Company, New York, USA) benutzt. Für die manuelle Probenaufgabe ist das Gerät mit zwei parallel geschalteten Säulen (15 cm Länge, 0,9 cm Durchmesser) ausgestattet. Mit einem automatischen Probenaufgeber, der mit einem Steuergerät für den automatischen Ablauf der Probenaufgabe, Analyse, Regenerierung und Äquilibrierung gekoppelt ist (Fa. Cenco Instrumenten BV, Breda, Niederlande) wird nur eine Säule benutzt. Als Austauscherharz wird Spherix XX 907-10 (Korngröße 11-14 μ m, Hersteller: Phoenix Precision Instrument Comp., Philadelphia, USA) verwendet. Die Säulentemperatur beträgt konstant 65°C. Eluiert wird mit Na-Zitratpuffer (pH 4,47 $\pm$ 0,01, 0,38 N, Zugabe von 40 ml Brij 35 (20%) und 1 ml Oktansäure/10 l Vorratsmenge). Nach jeder Analyse wird das Harz mit 0,4 N NaOH regeneriert und anschließend mit Na-Zitratpuffer (pH 4,47, 0,38 N) äquilibriert. Die Durchflußgeschwindigkeit für Puffer bzw. NaOH beträgt 60 ml/Stunde, für Ninhydrinreagenz ebenfalls 60 ml/Stunde.

Bei den beschriebenen Bedingungen werden Tyrosin und Phenylalanin getrennt von dem übrigen sauren und neutralen Aminosäuren eluiert und geben je eine Extinktionskurve.

Abbildung 3 zeigt das Chromatogramm eines kommerziellen Standardgemisches saurer und neutraler Aminosäuren in einer Konzentration von 0,05 mM.

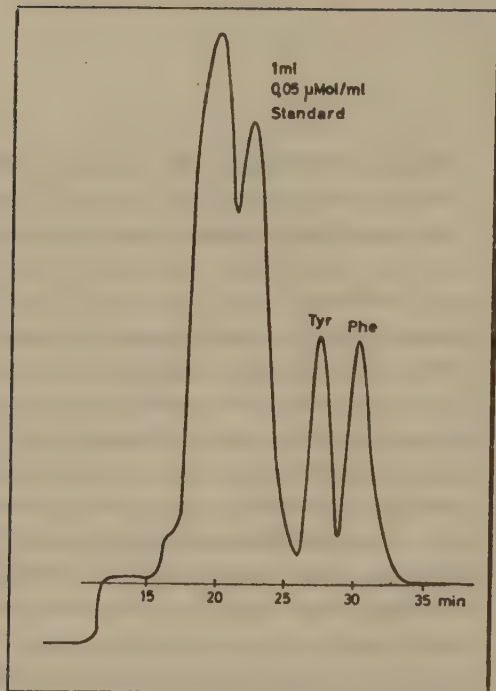


Abb. 3:

Extinktionskurve eines Standard-Gemisches saurer und neutraler Aminosäuren mit getrennter Elution von Tyrosin und Phenylalanin (Auftragsmenge je 0,05 µMol).

Abbildung 4 zeigt das Chromatogramm einer reinen L-Phenylalaninlösung (L-Phenylalanin p.a. Nr. 32179, Fa. Serva, Heidelberg, Lösung in 0,1 N HCl und Verdünnung auf 0,05 mM).

Retentionszeiten für Phenylalanin sowie die Flächeninhalte der Extinktionskurve beider Chromatogramme stimmen genau überein.

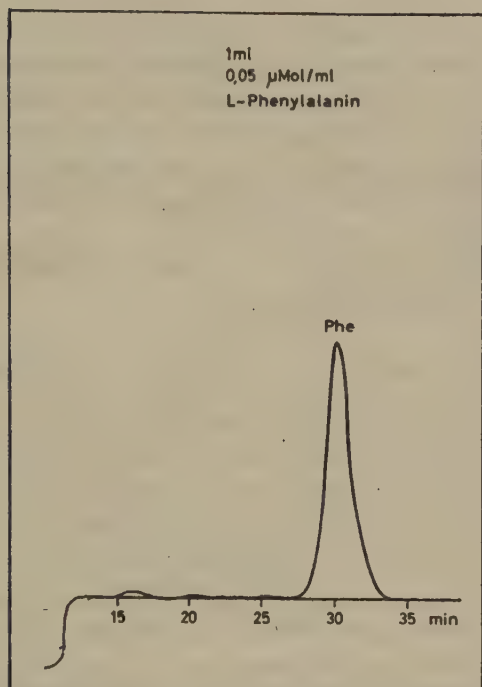


Abb. 4:

Extinktionskurve einer reinen Phenylalaninlösung
(Auftragsmenge 0,05 µMol).

Der Probenaufgeber ist mit 20 Probenschleifen
(Volumen exakt 1ml) ausgestattet. Nach Vorspü-
len einer Probenschleife mit Puffer und Durch-
drücken von Luft werden 1,6 - 1,8 ml der Probe
bzw. des Standards mit einer 2 ml-Plastikspritze
eingegeben, so daß die Probenschleife sicher voll-
ständig gefüllt ist. Am Probenwechsler wird auf
die nächste Schleife geschaltet und die nächste
Probe eingefüllt. So können nacheinander 20 Pro-

ben eingegeben werden. Dann wird am Steuergerät der Analysenvorgang gestartet, und Analyse, Regenerierung und Ägilibrierung laufen automatisch ab. Die Gesamtdauer einer Analyse beträgt 55 - 60 Minuten. Alle 20 Proben werden so nacheinander automatisch abgerufen und analysiert.

3.1.2. Eichung des Gerätes

3.1.2.1. Korrelation Konzentration zur Kurven-Fläche

Es wurden nacheinander je zweimal 100 μ l, 200 μ l, 400 μ l, 600 μ l, 800 μ l und 1 ml des Standards (0,1 mM L-Phenylalanin) analysiert und die Fläche der Phenylalaninkurve berechnet. Die Werte wurden gegen die vorgegebene Konzentration in ein Koordinatensystem (y-Achse: Fläche; x-Achse: Konzentration) aufgetragen. Die Regressionsgerade, die Streuung der Meßpunkte S_{xy} und der Korrelationskoeffizient r wurden nach den üblichen Formeln berechnet.

3.1.2.2. Bestimmung der Ausbeute

Es wurde zunächst eine Verdünnungsreihe aus einem zur Analyse in üblicher Weise (s.u.) aufgearbeiteten Blutplasma (Mischung aus Plasma dreier Probanden) und Na-Zitratpuffer pH 2.2 entsprechend 1 ml, 0,8 ml, 0,6 ml, 0,4 ml, und 0,2 ml Plasmavolumen hergestellt. Die einzelnen Proben wurden eluiert (Doppelbestimmung) und die Flächen der jeweiligen Phenylalanin-Kurven berechnet.

Die Phenylalaninkonzentrationen jeder Probe wurde durch Vergleich mit der oben beschriebenen Verdünnungsreihe der Standard-Phenylalaninkonzentration nach

$$\frac{\text{Konzentration Probe (mM)}}{\text{Konzentration Standard (mM)}} = \frac{\text{Fläche der Probe}}{\text{Fläche Standard}}$$

und

$$\text{Konzentration Probe (mM)} = \frac{\text{Fläche der Probe}}{\text{Fläche Standard / Konzentration Standard}}$$

ermittelt.

Zu einer gleichen Plasmaverdünnungsreihe in gleicher Reihenfolge wurden jeweils 0,01 μMol , 0,02 μMol , 0,04 μMol , 0,06 μMol und 0,08 μMol L-Phenylalanin zugegeben, die Proben wurden analysiert und in gleicher Weise berechnet. Die Differenzen der Konzentrationen

$$[\text{Plasma} + \text{Phenylalanin}] - [\text{Plasma}]$$

der zugehörigen Proben beider Reihen ergaben die Menge des durch Elution erhaltenen Phenylalanins und, in Prozent zur eingegebenen Phenylalaninmenge, die Ausbeute.

3.1.2.3. Fehler der Methodik

Bei einem Probanden wurden jeweils 10 Blutproben innerhalb 30 - 40 Sekunden venös unter folgenden Bedingungen entnommen:

1. Nach einer 12-stündigen Nahrungskarenz
2. Während einer Phenylalanininfusion (50 ml einer 2,5%igen L-Phenylalanin-Lösung pro Stunde, initial Primoinjektion von 30 ml der

gleichen Lösung in 10 Minuten), die zu einem erhöhten Äquilibrium der Phenylalaninkonzentration im Plasma führte.

3. 30 Minuten nach einer 10-minütigen Injektion von 0,303mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht während der oben beschriebenen Phenylalaninzufuhr.

Alle Blutproben wurden einzeln zur Analyse aufgearbeitet und getrennt analysiert (Doppelbestimmung). In den drei Probenreihen wurde der Mittelwert, die doppelte Standardabweichung, der Standardfehler des Mittelwertes und der Variationskoeffizient berechnet.

Die Präzision der Analyse wurde aus den Doppelbestimmungen jeder Probe nach

$$s_s = \sqrt{\frac{(x_i - x_i'')^2}{2m}}$$

$x_i - x_i''$ = Differenz der Doppelbestimmung

und

m = Anzahl der Differenzen

$$Vk = \frac{s_s \cdot 100}{\bar{x}} (\%)$$

s_s = Standardabweichung der Doppelbestimmungs-Reihe

ermittelt.

Darüberhinaus wurden Standardanalysen von allen 20 Probenschleifen des Analysators untereinander verglichen. Der Mittelwert, die Standardabweichung, der Standardfehler des Mittelwertes und der Variationskoeffizient der Flächeninhalte aller 20 Standardanalysen wurde zur Beurteilung des Meßfehlers, bedingt durch unterschiedliches Probenschleifenvolumen, herangezogen.

3.1.3. Aufarbeitung der Proben zur Analyse und Berechnung der Phenylalaninkonzentration:

3 ml Blut wurden sofort nach Entnahme in einem Plastikröhrchen mit 150 IE Heparin versetzt und für 10 Minuten bei 3.000 g zentrifugiert. 1ml des zellfreien Überstandes wurde zur Enteiweißung in 4 ml einer frisch zubereiteten 3%igen Sulfosalizylsäure (5-Sulfosalicylsäure, Fa. Merck Nr. 691, 3 g gelöst in 100 ml Aqua bidest) pipetiert, das Röhrchen gut geschüttelt und 10 Minuten lang bei 3.000 g zentrifugiert. Die im Nüchternzustand gewonnenen Plasmaproben wurden mit 5%iger Sulfosalizylsäure im Verhältnis 1:2 enteiweißt. Dies ermöglichte eine genauere Berechnung niedriger Plasmakonzentrationen, da die gegenüber einer stärkeren Verdünnung (1:5) höheren Extinktionskurven genauer ausgemessen werden konnten. Der klare Überstand wurde sofort direkt auf die Säule gegeben oder bei -20°C aufbewahrt. Die maximale Lagerungszeit betrug 14 Tage; in der Regel waren die Proben 1-3 Tage nach einem Versuch analysiert. Bei Proben mit einer erwarteten Phenylalaninkonzentration von mehr als 0,4 mM wurde der eiweißfreie Überstand mit Na-Zitratpuffer pH 2,2 im Verhältnis 1:2 bzw. bei einer erwarteten Konzentration von über 1 mM im Verhältnis 1:4 verdünnt, so daß im niedrigen Konzentrationsbereich 0,5 bzw. 0,2 ml, im mittleren Konzentrationsbereich 0,1 ml und im hohen Konzentrationsbereich 0,05 ml Plasma zur Analyse kamen. Die Phenylalaninkonzentration jeder Probe wurde nach Planimetrie der Extinktionskurve im Vergleich zur

Fläche der Standardlösung (0,1 mM) nach

$$\text{Konzentration Probe (mM)} = \frac{\text{Fläche Probe} \times \text{Verdünnung}}{\text{Fläche Standard/Konzentration Standard} \times 10}$$

berechnet.

Analysen des Standards wurden nach jeweils 20 Probenanalysen bzw. stets nach Verbrauch von 5 l Pufferlösung sowie bei frisch bereiteter Ninhydrinlösung wiederholt und zur Berechnung der nachfolgenden Analysen eingesetzt.

3.1.3.1. Analyse der Urinproben:

0,1 oder 0,2 ml des frischen oder bei -20°C gelagerten Urins wurden mit Na-Zitratpuffer pH 2,2 auf ein Endvolumen von 1 ml gebracht (Verdünnung 1:10 oder 1:5) und direkt nach SPACKMAN und Mitarbeiter (1958) chromatografiert (Gerät: Multichrom 4255, Fa. Beckman, München, Säule: 0,9 x 60 cm; Harz: Beckman M 72; Puffer I: Na-Zitratpuffer pH 3,25, 0,2 N; Puffer II: pH 4,26, 0,2 N; Küvette: Schichtdicke 16 mm; Säulentemperatur I 30°C (160 Minuten), Temperatur II 50°C. Analysendauer bis zum Phenylalanin 240 Minuten. Berechnung der Extinktionskurve durch automatische Integration der Fläche (Integrator System AA, Spectra-Physics, Mountain View, Ca., USA) und Vergleich mit einer Kurve eines Aminosäurenstandardgemisches (0,05 mM, Verdünnung eines kommerziellen Standards Typ P-AN, Hamilton Company, Reno, Nevada, USA)).

3.2. Herstellung der zur intravenösen Infusion verwendeten L-Phenylalaninlösung:

Je 100 g chromatografisch reines L-Phenylalanin (Nr. 32191, Fa. Serva, Heidelberg) wurden in 4 l steriler physiologischer NaCl-Lösung (159,1 mVal Na⁺/l) unter vorsichtigem Erwärmen auf 50°C gelöst, die fertige 2,5%ige Lösung wurde bei 130°C 45 Minuten lang autoklaviert und in sterilisierte 250 ml-Infusionsflaschen abgefüllt. Eine Probe jeder 4 l-Charge wurde im Tierversuch auf Pyrogenfreiheit geprüft sowie die Phenylalaninkonzentration darin bestimmt. Es wurde sorgfältig darauf geachtet, daß nur absolut klare Lösungen zur Infusion verwendet wurden.

3.3. V e r s u c h s a n o r d n u n g

3.3.1. Vorversuche:

Durch Vorversuche an vier erwachsenen Probanden sollten zunächst die folgenden Fragen zur Versuchsanordnung geklärt werden:

1. Verträglichkeit der intravenös applizierten L-Phenylalaninlösung.
2. Abstand zwischen den Blutentnahmen.
3. Praktische Durchführung der Blutabnahme.
4. Höhe der zu erwartenden Phenylalaninkonzentrationen im Plasma.
5. Benötigtes Probenvolumen und Gewinnung des Plasmas.
6. Verlauf der Konzentrationskurve nach Gabe von Phenylalanin.
7. Praktischer Nachweis der Richtigkeit einer errechneten Dauerinfusion zum Erreichen einer bestimmten Plasma-Phenylalaninkonzentration in einem künstlich erhöhten Gleichgewicht.

8. Berücksichtigung von "Ausreißer"-Werten.

Zu 1: In einer Dosis von 0,303 mMol/kg Körpergewicht als 10-minütige Kurzinfusion wie auch als Infusion über 150 Minuten (130 - 150 μ Mol/Std.) verursachte das applizierte Phenylalanin während oder nach der Infusion keine lokalen oder allgemeinen Symptome.

Zu 2: Bei zwei Probanden wurden Blutproben in den ersten 30 Minuten nach der Phenylalaningabe in 5-minütigem und in den folgenden 2 1/2 Stunden in 15-minütigem Abstand abgenommen. Es ließ sich ein schneller Abfall der Plasma-Phenylalaninkonzentration in den ersten 30 - 45 Minuten nach Gabe und ein wesentlich langsamerer Abfall über die nächsten 2 Stunden nachweisen.

Zu 3: Bei den ersten zwei Probanden wurde jede Blutprobe durch erneute Venenpunktion gewonnen. Diese Prozedur erwies sich als zunehmend schmerzhaft und im Verlauf der Untersuchung als teilweise sehr ungenau (Setzen eines Hämatoms durch paravenöse Punktion, verlangsamte und zeitlich verzögerte Blutabnahme). Deshalb wurde für die Blutentnahme eine zu Infusionszwecken benutzte Verweilkanüle mit einem angesetzten Plastikschlauch in eine Unterarmvene gelegt und zum Offenhalten zwischen den Blutabnahmen mit steriler physiologischer NaCl-Lösung gefüllt. Das zur Analyse benötigte Blut konnte nach Abziehen der NaCl-Füllung und ca. 1 ml Blut in etwa 20 - 40 Sekunden mit einer 5 ml-Plastikspritze entnommen werden. Nach 2 - 3 Stunden Verweildauer der Kanüle traten mehr-

fach Schwierigkeiten bei der Blutentnahme durch partiellen Verschuß der Nadel auf. Jetzt wurde auf eine evtl. ungenaue und verzögerte Blutentnahme zum vorgesehenen Zeitpunkt verzichtet und das System mit 1 - 2 ml steriler physiologischer NaCl-Lösung gespült. Sobald jetzt eine exakte Blutabnahme möglich war, wurde eine Probe entnommen und dieser Zeitpunkt notiert. In den Perioden kurzfristiger Probenentnahmen (5 Minuten- oder 10 Minuten-Abstand) mußte hin und wieder der Ausfall einer Probe in Kauf genommen werden.

Zu 4: 5 Minuten nach Beendigung der Phenylalanin-Kurzinfusion (0,303 mMol/kg Körpergewicht in 10 Minuten) betrugen die Plasmakonzentrationen 0,6-0,8 mM und 30 - 45 Minuten später noch etwa 0,25 - 0,3 mM. 3 Stunden nach Beendigung der Infusion waren sie auf 0,1 - 0,15 mM abgefallen. Dem wurde durch entsprechende Verdünnung der Proben im höheren Konzentrationsbereich Rechnung getragen.

Zu 5: Aus 3 ml Heparin-Blut wurden nach Zentrifugation mit einer Marburgpipette (auswechselbare Plastikspitze) 1 - 1,5 ml Plasma ohne Aufwirbeln der Zellen gewonnen. Nach Zentrifugation des Heparinblutes mit 1500 g für 10 Minuten war keine sichtbare Hämolyse nachweisbar, jedoch trat diese bei Kühlung des Blutes nach Entnahme vor der Zentrifugation auf. Deshalb wurde auf eine Kühlung verzichtet und das Blut unmittelbar nach Entnahme zentrifugiert.

Zu 6: Wenn man die zwischen der 45. und 180. Minute nach Kurzinfusion gemessenen Plasmakonzentrationen in ein halblogarithmisches Koordinatensystem eintrug, resultierte aus den Punkten eine

abfallende Gerade. Dies entspricht einem exponentiellen Konzentrationsabfall im betrachteten Zeitraum. Durch die weiter unten beschriebene Berechnung der Regressionsgeraden ließen sich wichtige Parameter, die zur weiteren Versuchsanordnung notwendig waren (Berechnung eines durch Infusion eingestellten künstlich erhöhten Gleichgewichts der Plasma-Phenylalaninkonzentration), schnell und ohne komplizierte mathematische Verfahren ermitteln.

Zu 7: Bei zwei Probanden wurde eine künstlich erhöhte Plasma-Phenylalaninkonzentration durch eine berechnete Infusion der Phenylalaninlösung über 150 Minuten erzeugt. Mehrfache Kontrollen der Phenylalaninkonzentration im Plasma zwischen der 60. und 150. Minute zeigten eine recht gute Übereinstimmung mit den vorausberechneten Werten und ein recht gleichmäßiges Plateau. Voraussetzung war allerdings die genaue Einhaltung der Infusionsgeschwindigkeit, was durch Benutzung elektronisch gesteuerter Infusionspumpen mit absolut konstanter und genau einstellbarer Infusionsgeschwindigkeit erreicht wurde. Die verwendeten Geräte (Fa. Tecmar, München; Infusiomat II, Fa. Braun Melsungen AG) wurden hinsichtlich ihrer Genauigkeit und Konstanz der Förderleistung bei verschiedenen Einstellungen kontrolliert, indem die Fördermenge pro Minute, 10 Minuten, 30 Minuten, 60 Minuten, 120 Minuten und 180 Minuten bei Verwendung genormter Infusionssysteme (Infusomat-Leitung, Fa. Braun Melsungen AG) gemessen

wurde.

Zu 8: Die oben beschriebene grafische Darstellung des Konzentrationsabfalls mit der dazugehörigen Regressionsgeraden ließ erkennen, daß vereinzelt Werte jenseits der doppelten Standardabweichung außerhalb der Regressionsgeraden lagen. Nach Ausschluß analytischer Fehler (Wiederholung der Analyse als Doppelbestimmung) schien es berechtigt, solche Werte bei der späteren Berechnung der Exponentialfunktion nicht zu berücksichtigen.

3.3.2. Auswahl der Probanden

3.3.2.1. Normalpersonen:

Der experimentelle Charakter der Untersuchungen ließ nur Erwachsene als Probanden zu. Alle Personen waren zum Zeitpunkt der Untersuchung frei von akuten Erkrankungen, in einem normalen Ernährungszustand und hatten in den letzten Wochen vor der Untersuchung ihre normalen Lebens- und Ernährungsgewohnheiten nicht verändert. Anamnestisch wurden durchgemachte Lebererkrankungen, die Einnahme von Medikamenten, übermäßige Alkoholfuhr sowie Erkrankungen der Familie, speziell eine Phenylketonurie oder Hyperphenylalaninämie, ausgeschlossen.

3.3.2.2. Heterozygote für Phenylketonurie:

Diesem Kollektiv sogenannter Normalpersonen wurde eine Gruppe von 8 Erwachsenen gegenübergestellt, die Eltern von Patienten mit Phenylketonurie (PKU) waren. Kriterien für die Auswahl dieser Probanden

waren, außer den oben genannten, der Schweregrad der Phenylketonurie der Kinder. Diese hatten in der Neugeborenenzeit vor Einleitung einer Behandlung Plasma-Phenylalaninkonzentrationen höher als 2,7 mM und schieden im Urin vermehrt Phenylpyruvat aus. Zur Einstellung der Phenylalaninkonzentration im Plasma zwischen 0,06 und 0,36 mM mußte die tägliche Phenylalaninzufuhr im ersten Lebensjahr auf 180 - 300 $\mu\text{Mol/kg}$ Körpergewicht und später auf 60 - 120 $\mu\text{Mol/kg}$ Körpergewicht eingeschränkt werden. Bei zwei der vier Patienten wurde eine definierte Eiweißbelastung entsprechend 1,1 mMol Phenylalanin/kg Körpergewicht und Tag über 3 Tage (BLASKOVICS und Mitarbeiter, 1974) vorgenommen. Darunter stieg die Plasma-Phenylalaninkonzentration am 3. Tag auf Werte über 1,8 mM an (schwere Form der Phenylketonurie).

Alle Probanden gaben ihre Zustimmung zur Untersuchung nach eingehender Erklärung der Zielsetzung und des Ablaufs sowie der Ungefährlichkeit der Phenylalaningabe in den gewählten Mengenbereichen.

3.3.3. Versuchsablauf:

Die Untersuchungen wurden morgens zwischen 7 Uhr 30 und 8 Uhr 30 begonnen. Die Probanden waren nüchtern und hatten letztmals 10 Stunden vor Untersuchungsbeginn Nahrungsmittel und Getränke zu sich genommen. Außergewöhnliche körperliche Aktivitäten vor Versuchsbeginn wurden vermieden. Während des gesamten Versuchsablaufs blieben die

Probanden in liegender Position bei Zimmertemperatur (25°C), nahmen keine Nahrung oder Flüssigkeit zu sich und durften nicht rauchen. An beiden Unterarmen wurde eine zur Infusion benutzte Flügelkanüle mit angesetztem Plastikschlauch in eine oberflächlich gelegene Vene gelegt und fixiert. Eine Kanüle diente zur Infusion, die andere Kanüle zur Blutentnahme. Nach der ersten Blutentnahme (Bestimmung der basalen Plasma-Phenylalaninkonzentration y_x) wurde mit der Phenylalanininfusion begonnen.

3.4. Versuche

3.4.1. Versuchsansatz I (Normalpersonen):

10 Probanden (6 Frauen, Alter 21 - 33 Jahre; 4 Männer, Alter 22 - 30 Jahre) mit einem Durchschnittsalter von 24,9 Jahren ("Normalpersonen").

3.4.1.1. Versuch I (Elimination bei natürlichem Gleichgewicht):

Es wurden 0,303 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht als 2,5%ige Lösung (2 ml/kg Körpergewicht) in 10 Minuten infundiert.

Bei zwei Probanden wurden innerhalb der ersten 30 Minuten nach Beendigung der Infusion Blutproben im Abstand von 5 Minuten und in den folgenden 150 Minuten alle 15 - 30 Minuten entnommen. Bei den übrigen Probanden wurde Blut 30, 60, 90, 120, 150 und 180 Minuten nach Beendigung der Infusion abgenommen.

3.4.1.2. Versuch II

(Elimination bei künstlich erhöhtem Gleichgewicht):

7 Tage nach Versuch I erhielten alle Probanden zunächst für 10 Minuten eine L-Phenylalanininfusion ("Primoinjektion"), deren Menge so berechnet wurde (s.u.), daß eine Plasmaphenylalaninkonzentration von 0,36 mM erreicht werden sollte. Daran anschließend wurde eine berechnete Menge an L-Phenylalanin infundiert, um die Plasmakonzentration bei 0,36 mM im Gleichgewicht zu halten. Zur Kontrolle wurden 60, 90, 120 und 150 Minuten nach Infusionsbeginn Blutproben entnommen. Zwischen der 150. und 160. Minute der Dauerinfusion wurden zusätzlich 0,303 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht gegeben und anschließend wiederum Blutproben wie in Versuch I entnommen, während die o.g. Infusion weiterlief.

3.4.2. Versuchsansatz II (Phenylketonurie-Heterozygote):

8 Heterozygote für Phenylketonurie (4 Frauen, Alter 22 - 31 Jahre; 4 Männer, Alter 30 - 38 Jahre) mit einem Durchschnittsalter von 29,75 Jahren.

3.4.2.1. Diese Probanden erhielten in Versuch I eine Infusion von 0,303 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht in 10 Minuten. Bei 7 Personen wurde Blut im Abstand von 30 Minuten bis 180 Minuten nach Beendigung der Kurzinfusion abgenommen, während bei einem Proband analog zu Versuchsansatz I in den ersten 30 Minuten in 5-minütigem, später in 15-minütigem Abstand bis 180 Minuten Proben entnommen wurden.

3.4.2.2. Versuch II wurde völlig analog zu Versuch I des Versuchsansatzes I durchgeführt, indem alle Probanden 7 Tage nach Versuch I unter einer berechneten Dauerinfusion eine zusätzliche 10-minütige L-Phenylalanininfusion von 0,303 mMol/kg Körpergewicht erhielten. Blutproben wurden 60, 90, 120 und 150 Minuten nach Beginn der Dauerinfusion zur Kontrolle des Äquilibrium im Plasma sowie in 30-minütigem Abstand nach der zusätzlichen Infusion (30 - 180 Minuten) entnommen.

3.4.3. Versuchsansatz III
(Elimination nach Abbruch eines künstlich erhöhten Phenylalaningleichgewichts):

3.4.3.1. 8 Probanden ("Normalpersonen", 4 Frauen, Alter 20 - 37 Jahre; 4 Männer, Alter 17 - 27 Jahre) mit einem Durchschnittsalter von 24,5 Jahren erhielten in Versuch I 0,303 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht als Infusion in 10 Minuten. Bei einem Probanden wurden über die folgenden 180 Minuten in 15-minütigem, bei den übrigen Personen in 30-minütigem Abstand Blut zur Analyse entnommen.

3.4.3.2. Versuch II: Nach den Daten aus Versuch I wurde 1 Woche später eine Primoinjektion sowie eine Dauerinfusion über 150 Minuten gegeben, die eine Erhöhung der Plasma-Phenylalaninkonzentration auf 0,36 mM erreichen und ein Äquilibrium in diesem Bereich halten sollte. Zur Kontrolle wurden bei 60, 90, 120 und 150 Minuten die Plasmakonzentrationen gemessen. Nach 150 Minuten Dauer wurde die Infusion gestoppt und anschließend über 180 Minuten bei drei Probanden in 15-minütigem, bei fünf Probanden in 30-minütigem Abstand Blut zur

Analyse entnommen.

- 3.4.4. Versuchsansatz IV (Elimination nach Injektion verschiedenen großer Phenylalaninmengen)
Er umfaßte 8 Probanden ("Normalpersonen", 4 Frauen, Alter 22 - 33 Jahre; 4 Männer, Alter 22- 43 Jahre) mit einem Durchschnittsalter von 29,6 Jahren.
- 3.4.4.1. Versuch I: Als Kurzinfusion wurden 0,152 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht in 10 Minuten gegeben. Innerhalb der folgenden 30 Minuten wurden bei 2 Probanden in 5-minütigem und bei 6 Probanden in 10-minütigem Abstand Blutproben zur Analyse abgenommen, während zwischen der 30. und 180. Minute der Abstand zwischen den einzelnen Blutabnahmen 15 Minuten betrug.
- 3.4.4.2. Versuch II: 7 Tage nach Versuch I wurden jetzt 0,455 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht in 10 Minuten infundiert. Bei zwei Probanden wurden in den ersten 30 Minuten nach Beendigung der Infusion Blutproben in 5-minütigem, bei den übrigen Probanden Blutproben in 10-minütigem Abstand abgenommen.
Zwischen 30 und 180 Minuten nach Infusionsende war der Probenabstand 15 Minuten.
- 3.4.5. Versuchsansatz V (Nachweis einer Sättigungskinetik)
Bei 5 Erwachsenen ("Normalpersonen", 2 Frauen, Alter 21 - 26 Jahre; 2 Männer, Alter 27 - 37 Jahre) mit einem Durchschnittsalter von 26,6 Jahren wurden im Abstand von 7 Tagen zwei verschiedene Mengen L-Phenylalanin in 6 Stunden infundiert.

3.4.5.1. Versuch I: Alle Probanden erhielten 0,076 mMol L-Phenylalanin/min in Form der beschriebenen 2,5%igen Lösung entsprechend 30 ml/Stunde in 6 Stunden. In der ersten Stunde wurden Blutproben in 10-minütigem Abstand, dann nach 75, 90, 105, 120, 150, 240, 300 und nach 360 Minuten abgenommen und die Infusion beendet. In den nun folgenden 180 Minuten wurden Proben bei 10, 20, 30, 40, 50, 60, 75, 90, 105, 120, 150 und 180 Minuten entnommen. Vor Beginn der Infusion wurde die Blase entleert, die Urinmenge gemessen und 5 ml davon zur Analyse bei -20°C aufbewahrt. Nach Beendigung der Infusion sowie 180 Minuten später wurde jeweils wiederum der gesamte Urin aufgefangen, die Mengen wurden gemessen und eine Probe zur Analyse aufgehoben.

3.4.5.2. Versuch II: Jetzt wurden 0,227 mMol L-Phenylalanin/min entsprechend 90 ml Lösung /Stunde bei einer Probandin, jedoch 0,152 mMol entsprechend 60 ml/Stunde bei den übrigen Personen über 6 Stunden gegeben. Die Entnahme der Blutproben sowie das Sammeln und Aufbewahren des Urins erfolgte in der gleichen Weise wie bei Versuch I.

3.4.6. Probanden

Die Daten der Probanden in den fünf Versuchsgruppen sind in der Tabelle 1 (Anhang) angegeben. Wegen der geringen Anzahl in den einzelnen Gruppen wurde auf eine Gegenüberstellung der gewonnenen Daten nach Alter und Geschlecht verzichtet. Aus dem gleichen Grund wurde eine Einnahme von Antikonzeptiva bei den weibl. Versuchspersonen nicht berücksichtigt.

3.5. Berechnung der pharmakokinetischen Parameter

3.5.1. Monoexponentieller Konzentrationsabfall

Aus den Vorversuchen war ersichtlich geworden, daß der Konzentrationsabfall des Phenylalanins im Plasma zwischen der 45. und 180. Minute nach Kurzinfusion von L-Phenylalanin einen monoexponentiellen Verlauf zeigte. Vereinfachend wurden nun die Konzentrationsverläufe zwischen der 45. und 180. Minute aus den Versuchen I der Gruppe I, II und III auf die Gleichung

$$y = y_x + (y_0 - y_x) \cdot e^{-k_2 \cdot t}$$

y = Konzentration zum Zeitpunkt t

y_x = basale Konzentration

$y_0 - y_x$ = fiktives Konzentrationsmaximum bei Beginn der Elimination

k_2 = Eliminationskonstante

bezogen.

Aus der Form

$$\ln(y - y_x) = \ln(y_0 - y_x) - k_2 \cdot t,$$

die einer linearen Regression zweier Variablen im halblogarithmischen Maßstabe entspricht, wurde k_2 mit Hilfe eines Tischrechners (Calculator 9810 A Modell 10, Hewlett-Packard Company, Loveland, Co., USA) ermittelt.

3.5.1.1. Künstliches Äquilibrium

3.5.1.1.1. Primoinjektion

Bei der Berechnung der für die Versuche II in Versuchsansatz I, II und III notwendigen Primoinjektion und der Infusionsgeschwindigkeit wurde wie folgt verfahren:

$$\Delta V = \frac{D/W}{y_0 - y_x}$$

ΔV = fiktives Verteilungsvolumen

D/W = injizierte Dosis pro kg Körpergewicht

Das fiktive Verteilungsvolumen oder der Verteilungsquotient ΔV ist definiert als das Verhältnis des (fiktiven) Verteilungsraumes einer Substanz zur Masse des gesamten Körpers ($\frac{1}{\text{kg}}$). Das fiktive Konzentrationsmaximum ($y_0 - y_x$) ließ sich aus der Funktion der Regressionsgeraden ermitteln.

Durch Umformen ergibt sich:

$$D = \Delta V \cdot (y_0 - y_x) \cdot W$$

Durch die Primoinjektion D' sollte ein Konzentrationsmaximum von

$$y' = 0,36 \text{ mM}$$

erreicht werden. Die notwendige L-Phenylalaninmenge für die Primoinjektion war danach

$$D' = \Delta V \cdot (0,36 \text{ mM} - y_x) \cdot W \quad W = \text{Körpergewicht in kg}$$

3.5.1.1.2. Dauerinfusion

Der Dosisstrom pro Zeiteinheit für eine Substanz im Äquilibrium, die in ein Kompartiment einströmt und es wieder verläßt, ist

$$v = D' \cdot k_2 = \Delta V \cdot (y' - y_x) \cdot W \cdot k_2$$

Damit ließ sich die L-Phenylalaninmenge, die notwendig war, um die Plasmakonzentration bei 0,36 mM im Gleichgewicht zu halten, für jeden Probanden berechnen:

$$\frac{\text{Infusionsmenge}}{\text{Stunde}} = \text{Distributionskoeffizient} \left(\frac{\text{Liter}}{\text{kg}} \right) \cdot (0,36 \text{ mM} - \text{Nüchtern-Plasmakonzentration}) \cdot \text{kg Körpergewicht} \cdot \text{Eliminationskonstante}$$

Es muß betont werden, daß die berechneten Mengen wegen der beschriebenen Vereinfachung des pharmakokinetischen Modells nur als Annäherung zu verstehen sind.

3.5.2. Anpassung der Daten an pharmokokinetische Modelle*

3.5.2.1. Graphische Darstellung des Modells

Geht man davon aus, daß der Konzentrationsablauf des Phenylalanins im Plasma sich durch eine Exponentialfunktion beschreiben läßt und diese die

*Für die großzügige Unterstützung bei der Durchführung der Rechenoperationen, die Bereitstellung der Programme sowie der technischen Einrichtungen und für viele wertvolle Vorschläge bin ich Herrn Priv.Doiz.Dr. G. Heimann, Abteilung für klinische Pharmakologie der Universitäts-Kinderklinik Köln, zu großem Dank verpflichtet.

Summe der Konzentrationsänderungen in mehreren Kompartimenten repräsentiert, so gilt:

$$C_t = \sum_{i=1}^n C_i \cdot e^{-\gamma_i \cdot t}$$

C_t = Konzentration zur Zeit t
 n = Anzahl der Kompartimente
 C_i = Hybridkoeffizient (formal
 = fiktive Anfangskonzentration $y_0 - y_x$)
 γ_i = Hybridexponent

Die grafische Darstellung des Konzentrationsverlaufs des Phenylalanins im Plasma (s.o.) zeigte, daß die Kurve offenbar aus mehreren Abschnitten besteht.

3.5.2.2. Mathematische Behandlung der Daten

Bei der Anpassung wird jeder Einzelprozeß gesondert berücksichtigt. Es werden zunächst die Parameter des letzten Kurvenanteils $C_1; \gamma_1$ im Zeitbereich zwischen $t_{C_t} \gg t_{C_0}$ und $t_{C_t} \rightarrow \infty$ ermittelt ("Abschälen").

Durch die Subtraktion der Terme $C_1 \cdot e^{-\gamma_1 \cdot t}$ von jedem noch verbliebenen Meßwert der Kurve wird ein Rest R erhalten, der den Funktionen der verbliebenen Kurvenabschnitte entspricht:

$$R_1 = C_t - C_1 \cdot e^{-\gamma_1 \cdot t}$$

Für alle Phasen des noch verbleibenden Kurvenverlaufs werden so die einzelnen R ermittelt, bis ein Rest von ungefähr 0 übrigbleibt:

$$R_2 = C_t - C_1 \cdot e^{-\gamma_1 \cdot t} - C_2 \cdot e^{-\gamma_2 \cdot t}$$

.

.

.

$$R_m = C_t - \sum_{i=1}^m C_i \cdot e^{-\gamma_i \cdot t} = 0$$

Die Anzahl m der so erhaltenen R läßt Rückschlüsse über die Anzahl der Teilprozesse zu.

3.5.2.3. Kurven-Iteration

Die Anpassung der Teilprozesse erfolgte nach dem Gauss-Newton-Iterationsverfahren (WAGNER, 1977; HEIMANN, 1978).

Zur Anpassung der Gesamtkurve wurden alle Terme $C; \gamma$ mit Hilfe einer "rotierenden iterativen Prozedur" (RIP) (v.HATTINGBERG und Mitarbeiter, 1977) simultan korrigiert, indem zunächst die Reste $n^{-1}R$ für die Summe von n-1 Termen optimiert wurden und dann der jeweils nächstfolgende Term $C; \gamma$ angepaßt ($n^{-2}R$) und optimiert wurde usw.

Damit jedoch die fortlaufenden Iterationen nicht endlos ablaufen, sind Abbruchkriterien vorgesehen, wenn die Präzision $P = 2 \longrightarrow 10^{-2} = 0,01$ für

$$\frac{\text{SSQ der n-ten Iteration} - \text{SSQ der n+1ten Iteration}}{\text{SSQ der n+1ten Iteration}} = P$$

erreicht ist.

(SSQ = Summe der Abweichungsquadrate der
Terme $C; \gamma$)

Allerdings wird in dem benutzten Programm die Präzision für die erhaltenen und nicht für SSQ berücksichtigt.

Bei idealer Iteration wäre $\frac{n_y}{n+1_y} = 1$

Für $P = 2$ ist

$$1 + 10^{-P} > \frac{n_y}{n+1_y} > 1 - 10^{-P}$$

bzw.

$$1,01 > \frac{n_y}{n+1_y} > 0,99 \quad ,$$

d.h., wird bis auf eine Restabweichung von 1% angepaßt.

3.5.2.4. Kriterien für die Güte der Kurvenanpassung

1. Die Summe der Abweichungsquadrate SSQ muß sehr klein sein.
2. Die Reststreuung der beobachteten Werte um die Regressionskurve soll minimal sein. Dies wird angegeben durch das Bestimmtheitsmaß B, das im Idealfall bei Deckung der Wertekurve mit der Regressionskurve den Wert 1 hat. Als Kriterium wurde ein Wert von B 0,9 gefordert.
3. Der Korrelationskoeffizient $r = B$ bestimmt das Maß für die Sicherheit der Regressionskurve (Güte der Regression) und sollte größer sein als 0,95.

Das RIP-Programm war für die Kurvenverläufe, bei denen mehrere Meßwerte aus den ersten 30 Minuten der Phenylalaninelimination vorlagen, voll anwendbar. Zur Kurvenanpassung jener Verläufe, für die Meßwerte ab der 30. Minute zur Verfügung standen, wurde der erste Kurvenabschnitt näherungsweise unter Zuhilfenahme der 30- bzw. 45-Minuten-Werte zeichnerisch dargestellt und ein als Hilfspunkt bezeichneter Wert bei 5 Minuten ermittelt. Im folgenden wird dieses Verfahren als "Eliminationsprogramm" bezeichnet.

3.5.3. Pharmakokinetische Parameter

Folgende kinetische Parameter waren aus dem RIP-Programm und dem Eliminationsprogramm zu erhalten:

1. Die Hybridkonstanten γ jedes abgeschalteten Kurvenabschnittes als Steigung (slopes), wobei der α -slope (angegeben aus Kurven des RIP-Programms) dem initialen Kurvenabschnitt und der β -slope (bzw. k_2 des Eliminationsprogramms) dem sich anschließenden flacheren Kurvenabschnitt entsprach.

2. Die dazugehörigen Halbwertszeiten $t_{50\%}$

$$t_{50\%} = \frac{\ln 2}{\gamma} \quad \text{bzw.} \quad t_{50\%} = \frac{\ln 2}{k_2}$$

3. Die Konzentrationen $Y_0 - Y_x$ (Eliminationsprogramm)

$$\text{bzw. } C_0 = \sum C_i \quad (\text{RIP-Programm}) \text{ zur Zeit } t = 0.$$

4. Die Mikrokonstanten k_{12} , k_{21} und k_{el} des pharma-

kokinetischen Modells nach

MAYERSOHN und GIBALDI, 1971 .

5. Das zentrale Verteilungsvolumen $V_c = \frac{D}{\sum c_i}$
6. Das Gesamtverteilungsvolumen im Pseudogleichgewicht (steady state)

$$V_{ss} = \frac{D \cdot \sum \frac{C_i}{Y_i^2}}{\left(\sum \frac{C_i}{Y_i} \right)^2} \quad (\text{RIP-Programm})$$

bzw.

$$V = \frac{D}{Y_0 - Y_x} \quad (\text{Eliminations-Programm})$$

7. Die fiktiven Verteilungsvolumina

$$\Delta V_c = \frac{D/W}{\sum c_i} \quad (\text{RIP-Programm})$$

$$\Delta V = \frac{D/W}{Y_0 - Y_x} \quad (\text{Eliminations-Programm})$$

bzw.

$$\Delta V_{ss} = \frac{D/W \sum \frac{C_i}{Y_i^2}}{\left(\sum \frac{C_i}{Y_i} \right)^2} \quad (\text{RIP-Programm})$$

8. Die totale Clearance Cl_{tot} nach

$$Cl_{tot} = V \cdot k_2 \quad (\text{Eliminations-Programm})$$

bzw.

$$Cl_{tot} = \frac{D}{\sum \frac{C_i}{f_i}} \quad (\text{RIP-Programm})$$

9. Der austauschbare pool PL entsprechend

$$PL = \Delta V \cdot y_x \quad (\text{Eliminations-Programm})$$

bzw.

$$PL = \Delta V_{ss} \cdot y_x \quad (\text{RIP-Programm})$$

10. Der Transfer Tf nach

$$Tf = Pl \cdot k_2 \quad (\text{Eliminations-Programm})$$

bzw.

$$Tf = Cl_{tot} \cdot y_x \quad (\text{RIP-Programm})$$

11. Die totale Clearance im künstlich erhöhten Fließgleichgewicht (Versuch II der Versuchsansätze III und V) ließ sich nach

$$Cl_{tot} = \frac{v}{y}$$

v = Infusionsgeschwindigkeit ($\mu\text{Mol/min}$)

y = Plasmakonzentration im künstlichen Fließgleichgewicht

ermitteln.

Daraus konnte das Gesamtverteilungsvolumen im steady state

$$V_{ss} = \frac{Cl_{tot} \cdot \sum \frac{C_i}{r_i}}{\sum \frac{C_i}{r_i}} \quad (\text{RIP-Programm})$$

bzw.

$$V = \frac{Cl_{tot}}{k_2} \quad (\text{Eliminations-Programm}),$$

13. das relative Verteilungsvolumen

$$V = \frac{V}{W} \quad \text{bzw.} \quad V_{ss} = \frac{V_{ss}}{W},$$

14. der austauschbare pool

$$Pl = V \cdot y_x \quad \text{und}$$

15. der Transfer

$$Tf = Pl \cdot k_2 \quad (\text{Eliminations-Programm})$$

bzw.

$$Tf = Cl_{tot} \cdot y_x \quad (\text{RIP-Programm})$$

berechnet werden.

Diese Größen wurden aus den Meßwerten der Versuche I und II der Versuchsansätze I - IV berechnet.

3.5.4. Sättigungskinetik

Die Konzentrationsverläufe der Versuche I und II des Versuchsansatzes V wurden gesondert ausgewertet. Zunächst wurde der Kurvenabschnitt der Elimination einem 2-Kompartiment-Modell angepaßt. Dann wurde der aufsteigende Teil der Kurve angepaßt, wobei der Bereich zwischen 0 und 120 Minuten die beste Näherung an einen monoexponentiellen Anstieg ergab.

Entsprechend der Funktion

$$y_{\text{Inf}} = y^* - y_x \cdot (1 - e^{-k_2 \cdot t})$$

$y^* - y_x$ = Differenz der Meßwerte zwischen 0 und
120 Minuten

wurde die initiale Geschwindigkeitskonstante k_i
der während des Phenylalanineinstroms ablaufen-
den Elimination ermittelt.

Für die applizierten Dosen $D_1 = 9,12$ mMol L-Phe-
nylalanin und $D_2 = 18,24$ mMol L-Phenylalanin und
die erhaltenen k_{i1} und k_{i2} wurden nach

$$v = D \cdot k_i \quad (\text{HEIMANN und Mitarbeiter, 1977})$$

die initiale Eliminationsgeschwindigkeit ermittelt
und die Reziprokwerte $\frac{1}{v}$ gegen $\frac{1}{D}$ nach LINEWEAVER
und BURK (1934) in ein Koordinationssystem einge-
tragen. Die Schnittpunkte der durch beide Punkte
 $\frac{1}{v_1} / \frac{1}{D_1}$ und $\frac{1}{v_2} / \frac{1}{D_2}$ gelegten Geraden mit der y-Achse
ergaben die maximale Eliminationsgeschwindigkeit
 v_{Max} während der L-Phenylalanininfusion und die
Schnittpunkte mit der x-Achse die Menge des appli-
zierten Phenylalanins, bei der die halbmaximale
Geschwindigkeit erreicht wird (" K_M -Wert").

3.6. Statistik

Zunächst wurden die Datengruppen aus jedem Versuch nach dem χ^2 -Test auf Normalverteilung geprüft. War eine Normalverteilung gegeben, wurden von jeder Wertegruppe mit n Einzelwerten der arithmetische Mittelwert, die Standardabweichung, der Standardfehler des Mittelwertes und gegebenenfalls der Variationskoeffizient ermittelt.

Die Prüfung zweier Mittelwerte auf signifikante Unterschiede bei gepaarten Daten erfolgte nach dem t-Test für gepaarte Daten nach STUDENT (paired t-test).

Die Prüfung zweier unabhängiger Mittelwerte auf signifikante Unterschiede wurde mit dem t-Test (unpaired data) nach STUDENT vorgenommen.

Ein Unterschied wurde als statistisch signifikant angesehen, wenn der p-Wert kleiner als 0,02 ($p \leq 0,02$) war. Voraussetzung für die Durchführung des t-Testes war, daß der F-Test (Prüfung zweier Varianzen auf signifikante Unterschiede) für die zu prüfenden Wertegruppen nicht signifikant war:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} = \frac{\sum_{i=1}^n C_{i1}^2 / \mu_1}{\sum_{i=1}^n C_{i2}^2 / \mu_2}$$

s_1, s_2 = Varianzen der Wertgruppen C_1 und C_2
 ν_1, ν_2 = Freiheitsgrade der Wertegruppen

Ergab sich bei der Prüfung einer Wertegruppe keine Normalverteilung, so wurden der Median M (50. Perzentile) nach

$$0(p) = n \cdot p + 0,5 \text{ für } \frac{1}{n} \leq p \leq \frac{n-1}{n}$$

0 = Ordnungszahl der Ränge für den Quartil p (0,5);
 n = Anzahl der Werte

und die Variationsbreite

$$r = x_n - x_1$$

ermittelt.

Die Prüfung der gepaarten Wertegruppen auf signifikante Unterschiede erfolgte mit dem WILCOXON-Paardifferenzen-Test, die Prüfung der unabhängigen Wertegruppen (ungepaarte Daten) mit dem U-Test nach MANN und WHITNEY.

Die Signifikanzschranken p für t , F , T_+ , T_- sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit α wurden aus Standardtabellen (Documenta Geigy 1968) entnommen.

4. ERGEBNISSE

4.1. Präzision der Phenylalaninbestimmung im Plasma

In der Abbildung 5 sind die Flächeninhalte der Phenylalanin-Extinktionskurven (Doppelbestimmungen) gegen die Konzentrationen aufgetragen. Die Streuung S_{xy} der Meßpunkte beträgt 0,02611, und der Korrelationskoeffizient r ist 0,99954.

Richtigkeit der Analyse:

Die Phenylalanin-Wiederfindungsrate liegt im Bereich zwischen 0,02 und 0,08 μMol Phenylalanin. bei 97,5 - 105%.

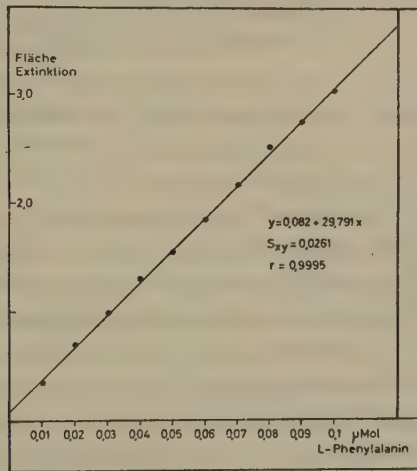


Abb. 5: Eichkurve der Phenylalaninbestimmung (Korrelation der analysierten Phenylalaninmenge zur Fläche der Extinktionskurve).

Der Meßfehler der Methode, bestimmt aus jeweils 10 Plasmaproben in drei verschiedenen Konzentrationsbereichen, ist in der Tabelle 3 angegeben. Er beträgt

4% im Nüchternbereich ($\bar{x} = 0,05 \text{ mM}$),

4% im mittleren Konzentrationsbereich ($\bar{x} = 0,42 \text{ mM}$),
und

1,6% im hohen Konzentrationsbereich ($\bar{x} = 0,86 \text{ mM}$).

$\bar{x}$	$2s$	$s_{\bar{x}}$	V_k
0,05 mM	0,004 mM	0,0007 mM	4,0%
0,42 mM	0,034 mM	0,0055 mM	4,0%
0,86 mM	0,032 mM	0,005 mM	1,86%

Tab. 3: Mittelwert ($\bar{x}$), doppelte Standardabweichung ($2s$), Fehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) und Variationskoeffizient von jeweils 10 Bestimmungen der Plasma-Phenylalaninkonzentration im niedrigen, mittleren und hohen Bereich.

Die Präzision der Analyse aufgrund von Doppelbestimmungen beträgt im Nüchternbereich 0,0018 mM (Variationskoeffizient 3,3%), im mittleren Konzentrationsbereich 0,0078 mM (Variationskoeffizient 1,88%) und im hohen Konzentrationsbereich 0,013 mM (Variationskoeffizient 1,54%). Die Unterschiede zwischen den Analysenwerten aus den einzelnen Probenschleifen des Probenaufgebers sind gering. Bei einem Mittelwert der Kurvenflächen aus 20 Analysen (0,1 μMol) Phenylalanin) von $\bar{x} = 3,59$ wird eine Standardabweichung von 0,054, ein Standardfehler des Mittelwertes von 0,013 (0,36% vom Mittelwert)

und ein Variationskoeffizient von 1,5% ermittelt.

4.2. Das pharmakokinetische Modell des Phenylalanin-Konzentrationsverlaufs

Die zeichnerische Darstellung derjenigen Konzentrationsverläufe, bei denen zahlreiche Werte in den ersten 30 Minuten nach Beendigung der 10-minütigen L-Phenylalanininfusion vorliegen, ließ einen biexponentiellen Abfall im Sinne eines 2-Kompartimentmodells der Phenylalaninelimination aus dem Blutplasma vermuten. Repräsentative Kurven einer Normalperson sowie eines für Phenylketonurie heterozygoten Probanden sind in den Abbildungen 6 und 7 wiedergegeben.

Nach Kurvenanpassung ließ sich bei 28 der 30 zur Verfügung stehenden Konzentrationsverläufe mit mehreren Meßwerten in den ersten 30 Minuten ein schnellerer Verlauf mit dem Term $C_2; \gamma_2$ von einem wesentlich langsameren Verlauf mit dem Term $C_1; \gamma_1$ abgrenzen. Das gilt sowohl für die Normalpersonen wie auch für die Phenylketonurie-Heterozygoten, von denen allerdings nur ein Verlauf zur kompletten Modellanpassung zur Verfügung stand (Abb. 7).

Die ermittelten Parameter sind in der Tabelle 2 (Anhang) aufgeführt. Der schnelle Prozeß ist durch den Abschnitt A der y-Achse, der Steigung α (entspricht der Hybridkonstanten γ_2) und der daraus resultierenden "Halbwertszeit" $t_{50\%}(\alpha)$, der langsame Prozeß ist durch den Abschnitt B der y-Achse, der Steigung β (entspricht der Hybridkonstanten γ_1) und der daraus resultierenden biologischen Halbwertszeit $t_{50\%}$ repräsentiert.

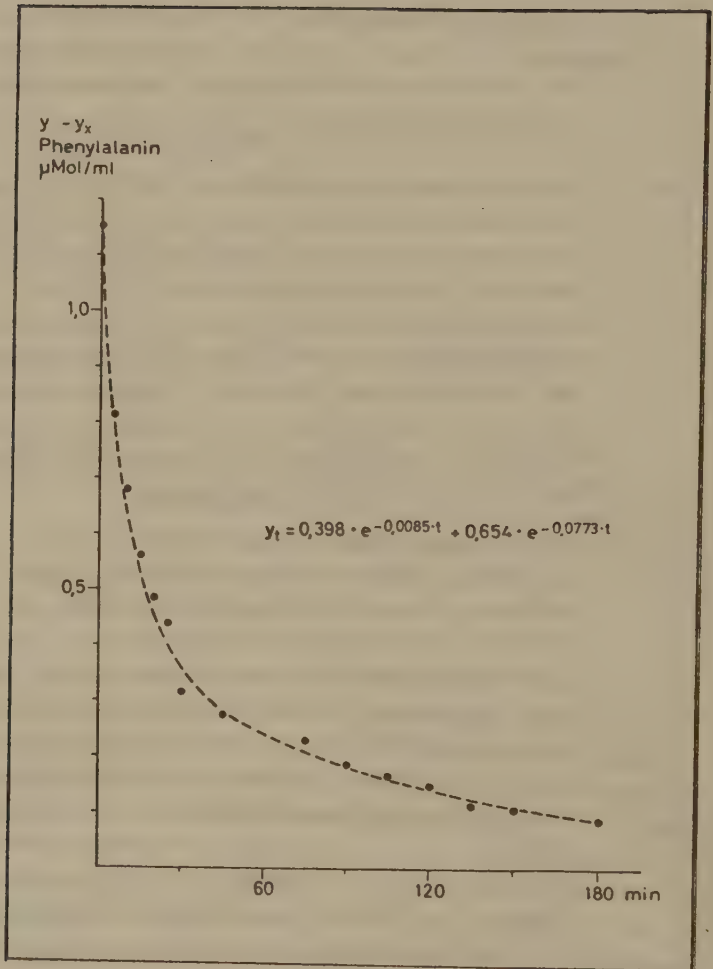


Abb. 6: Konzentrationsverlauf des Phenylalanins im Plasma bei einer Normalperson nach 10-minütiger Infusion von 0,303 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht.

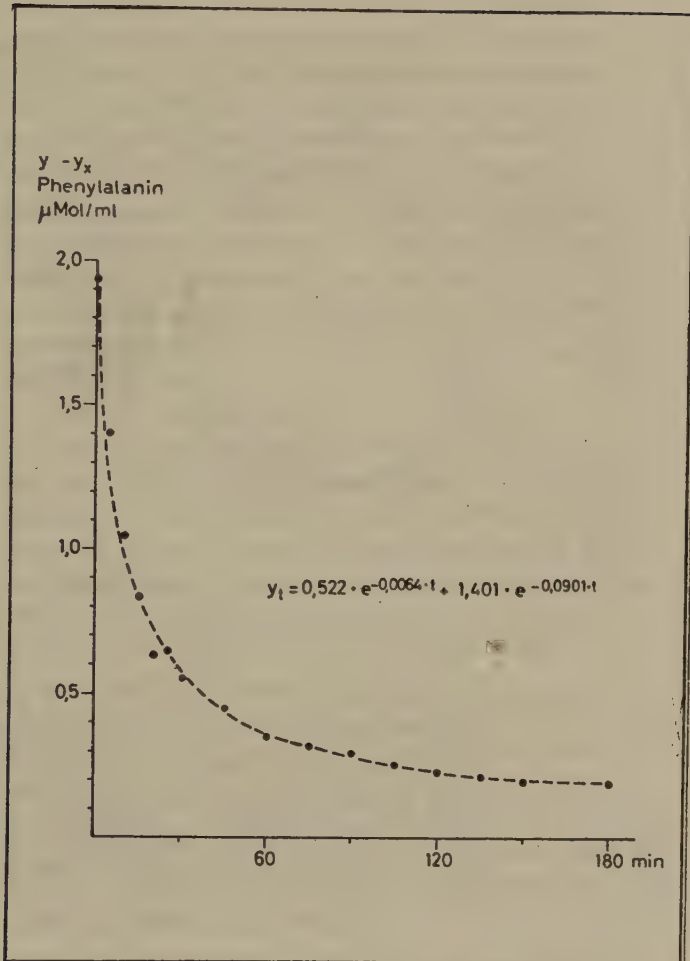


Abb. 7: Konzentrationsverlauf des Phenylalanins im Plasma bei einem Phenylketonurie-Heterozygoten nach 10-minütiger Infusion von 0,303 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht.

Eine beispielhafte zeichnerische Darstellung zeigt die Abbildung 8.

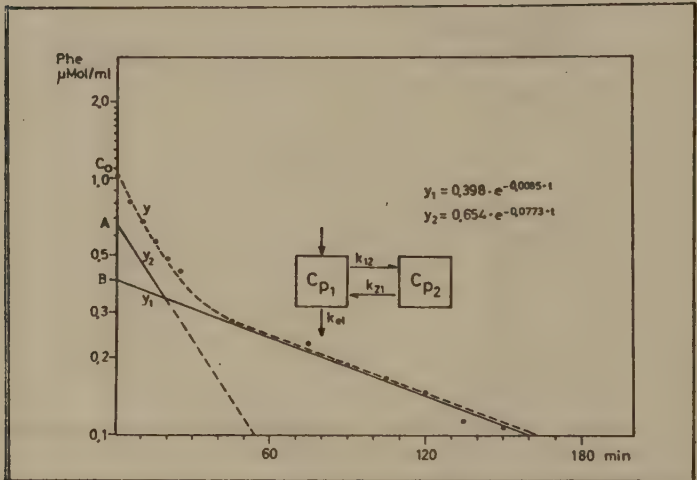


Abb. 8: Darstellung des biexponentiellen Konzentrationsverlaufs des Phenylalanins im Plasma bei einer Normalperson mit Abgrenzung eines initialen Verlaufes y_2 (Anfangskonzentration A) von einem langsamen Verlauf y_1 (Anfangskonzentration B).

Die Summe der Abschnitte A und B ergibt den hypothetischen Anfangspunkt $y_0 - y_x = C_0$ der aus beiden Verläufen zusammengesetzten Eliminationskurve nach Formel (12).

Die Versuchsanordnung, die Höhe und die Anzahl der Meßwerte ließ die Abgrenzung weiterer Terme $C; y$ nicht zu, so daß ein oder mehrere zusätzliche Prozesse, die den Gesamtverlauf der Phenylalaninelimination beeinflussen könnten, nicht sicher ausgeschlossen sind.

Ein Hinweis für das Vorliegen dieses Modells ist in der Güte der Kurvenanpassung zu sehen. Die Parameter dafür (Summe der Abweichungsquadrate SSQ, Bestimmtheitsmaß B, Korrelationskoeffizient r), gewonnen aus der Anpassung an ein 2-Kompartimentmodell, sind in der Tabelle 3 (Anhang) wiedergegeben. Für SSQ ist $\bar{x}=0,054$ mM, $s=0,052$ mM, $s_x=0,011$ mM; für B ist $\bar{x}=0,990$, $s=0,006$ und $s_x=0,001$; für r ist $\bar{x}=0,995$, $s=0,003$ und $s_x=0,0006$.

Der Ablauf des initialen Verlaufes y_{II} ist bei 28 Versuchen etwa 10-15mal schneller als der Verlauf y_I und beeinflusst den Konzentrationsverlauf des infundierten Phenylalanins im Plasma in den ersten 20-50 Minuten. Danach bestimmt der Prozeß B;ß praktisch allein den Kurvenverlauf, wie es in der Abbildung 8 zu erkennen ist. Abweichend hiervon müssen die restlichen zwei in der Tabelle 2 (Anhang) aufgeführten Versuche des Versuchsansatzes V (Probanden M.K. und K.B.) bewertet werden. Hier ist, besonders bei dem Proband K.B. in Versuch I, ein initialer Verlauf y_{II} nicht scharf abzugrenzen, so daß der Kurvenverlauf zumindest bei diesen beiden Probanden monoexponentiell erscheint.

In der Tabelle 2 (Anhang) sind ebenfalls die errechneten Mikrokonstanten k_{12} (Abstrom des Phenylalanins aus dem zentralen Kompartiment in ein Seitenkompartiment), k_{21} (Rückstrom des Phenylalanins aus dem Seitenkompartiment in das zentrale Kompartiment) sowie k_{e1} (Elimination aus

dem zentralen Kompartiment) aufgeführt. Diese Mikrokonstanten zeigen wie alle anderen pharmakokinetischen Parameter große individuelle Unterschiede. Der Vergleich der Mittelwerte von k_{12} und k_{21} aus den Versuchen der Versuchsansätze I - IV zeigt keinen signifikanten Unterschied (k_{12} : $\bar{x} = 0,0414/\text{min}$, $s = 0,0237/\text{min}$, $s_{\bar{x}} = 0,0051/\text{min}$; k_{21} : $\bar{x} = 0,0425/\text{min}$, $s = 0,0235/\text{min}$, $s_{\bar{x}} = 0,0050/\text{min}$, $t_p = 0,23953$, $p > 0,4$), d.h. der Ausstrom des Phenylalanins aus dem zentralen Kompartiment in ein Seitenkompartiment verläuft etwa mit gleicher Geschwindigkeit wie der Rückstrom des Phenylalanins aus einem Seitenkompartiment in das zentrale Kompartiment.

Die reine Elimination aus dem zentralen Kompartiment, charakterisiert durch die Geschwindigkeitskonstante k_{el} , verläuft im Vergleich dazu etwa zweimal langsamer ($\bar{x} = 0,0176/\text{min}$, $s = 0,0061/\text{min}$, $t_p = 5,19504$, $p \leq 0,005$), wenn man die Werte des Versuchsansatzes V nicht berücksichtigt, bei denen die Phenylalaninelimination nach Abbruch eines künstlich erhöhten Gleichgewichts ausgewertet wurde.

Die Anzahl der Werte für k_{12} , k_{21} und k_{el} dieser Gruppe V ist für einen Vergleich zu klein.

Offenbar besteht hier jedoch nicht die bei den Versuchsansätzen I - IV gefundene Beziehung zwischen k_{12} , k_{21} und k_{el} , d.h. die Phenylalanindauerinfusion zur Erzielung eines künstlich erhöhten Gleichgewichts könnte bereits zu einem partiellen Ausgleich der Phenylalaninkonzentration zwischen dem zentralen und einem (oder mehreren) Seitenkompartimenten geführt haben.

In der Tabelle 4 (Anhang) sind die errechneten Werte für das zentrale Verteilungsvolumen V_c und das Gesamtverteilungsvolumen V_{ss} des infundierten Phenylalanins sowie die auf das jeweilige Körpergewicht der Probanden bezogenen relativen Verteilungsvolumina ΔV_c und V_{ss} angegeben. Die Mittelwerte für ΔV_c und ΔV_{ss} aus den Versuchsansätzen I - IV betragen 0,32 (Liter/kg) mit $r = 0,46$ (Liter/kg), (0,16 - 0,62 (Liter/kg)) bzw. $\bar{x} = 0,65$ (Liter/kg) mit $s = 0,16$ (Liter/kg). Damit ist das zentrale Verteilungsvolumen, aus dem das infundierte Phenylalanin in andere Kompartimente reversibel abströmt bzw. eliminiert wird, größer als der extrazelluläre Flüssigkeitsraum. Der Gesamtverteilungsraum, der von dem infundierten Phenylalanin nach abgeschlossenem Konzentrationsausgleich eingenommen wird, entspricht dem Flüssigkeitsraum des Gesamtkörperwassers.

4.3. Auswertung der pharmakokinetischen Parameter

4.3.1. Vergleich der Anpassung an ein 2-Kompartimentmodell und 1-Kompartimentmodell-----

Ein Teil der Kurvenverläufe mußte an ein vereinfachtes pharmakokinetisches Modell (Eliminationsprogramm) angepaßt werden, da Meßwerte für die Phenylalaninplasmakonzentration erst ab der 30. Minute nach Beendigung der Infusion zur Verfügung standen. Dieses Programm liefert statt der Hybridkonstanten μ_2 und μ_1 sowie der Achsenabschnitte B und A die Eliminationskonstante k_2 und den fiktiven Anfangspunkt $y_0 - y_x$ der Elimination zum Zeitpunkt $t = 0$. Es mußte geprüft werden, ob der Verlauf y_I des 2-Kompartimentmodells mit ausreichender

Übereinstimmung durch k_2 aus dem Eliminationsprogramm entsprechend Formel (3) (s. Seite 32) ausgedrückt werden konnte. Dazu wurden die Meßdaten der Versuche I und II des Versuchsansatzes IV (Infusion von 0,152 bzw. 0,455 mM L-Phenylalanin/kg Körpergewicht über 10 Minuten im Nüchternzustand) ebenfalls nach dem Eliminationsprogramm (s. Seite 89) angepaßt. Die erhaltenen fiktiven Anfangswerte C_0 , die Halbwertszeiten $t_{50\%}$ aus k_2 , das Verteilungsvolumen V , die totale Clearance Cl_{tot} , der austauschbare Pool Pl und der Transfer Tf wurden den entsprechenden Daten ($t_{50\%}$ aus λ_1 , V_{ss} , Cl_{tot} , Pl und Tf) aus dem RIP-Programm gegenübergestellt (Tabelle 5 (Anhang) und Abbildung 9).

Eine gute Übereinstimmung ist zwischen den Halbwertszeiten, berechnet aus dem k_2 -Wert, und der biologischen Halbwertszeit, berechnet aus dem λ_1 -Wert, zu sehen. Das Verteilungsvolumen, die totale Clearance, der austauschbare Pool und der Transfer werden, wenn man den Term C_2, λ_2 der biexponentiellen Formel vernachlässigt, erwartungsgemäß zu hoch eingeschätzt. Dieses resultiert aus der Erniedrigung der fiktiven Anfangskonzentration C_0 etwa um den Betrag A (siehe Formel 32). Der Unterschied zwischen den Mittelwerten, berechnet nach einer Anpassung an ein 1-Kompartimentmodell und an ein 2-Kompartimentmodell, beträgt für das Gesamtverteilungsvolumen 16,3%, für Cl_{tot} 6,7%, für den austauschbaren Pool 16,6% und für den Transfer 9,5% (Tabelle 3).

Die pharmakokinetischen Parameter aller Versuchsansätze (Eliminationshalbwertszeit $t_{50\%}$, relatives Verteilungsvolumen ΔV , totale Clearance Cl_{tot} , aus-

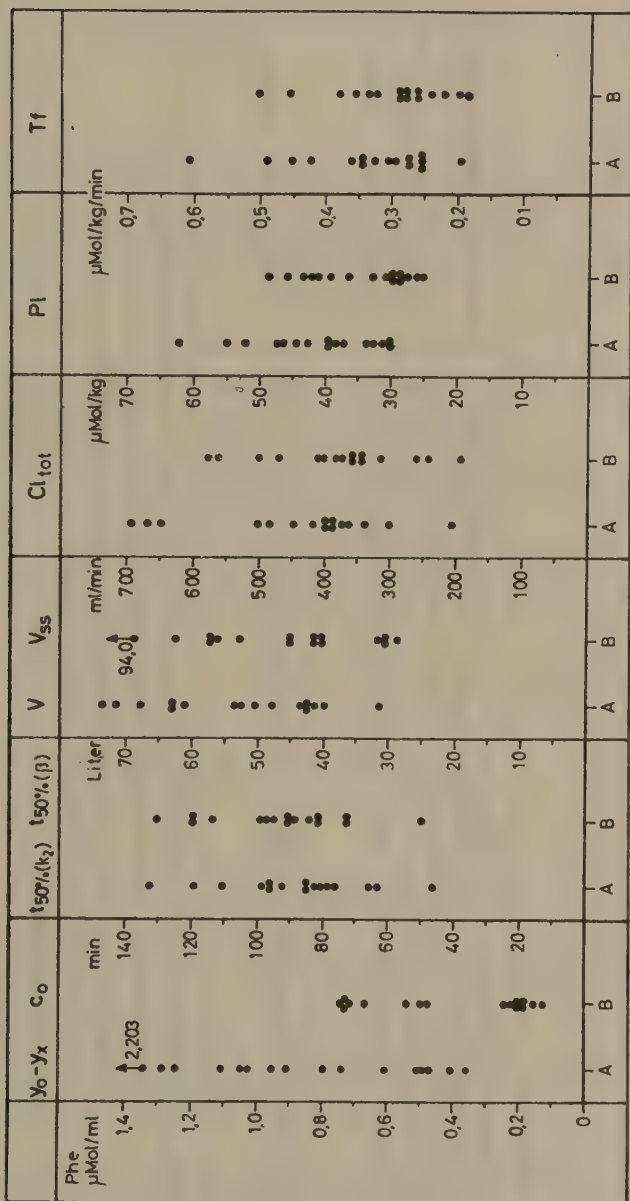


Abb. 9: Gegenüberstellung der pharmakokinetischen Parameter (fiktive Anfangskonzentration $y_0 - y_x$ bzw. C_0 , Eliminationshalbwertszeit $t_{50\%}(k_2)$ bzw. $t_{50\%}(\beta)$, Gesamtverteilungsvolumen V bzw. V_{ss} , totale Clearance Cl_{tot} , austauschbarer Pool Pl und Transfer Tf) nach Anpassung an ein 1-Kompartment-(A) und an ein 2-Kompartmentmodell (B).

	Gesamtverteilungs- volumen (l/kg)		totale Clearance (ml/min)		austauschbarer pool (μMol/kg)			Transfer (μMol/kg/min)	
	M	r	M	r	$\bar{x}$	s	ex	M	r
Eliminations- programm	51,75	31,31-73,48	390,6	203,5-692,3	41,36	9,40	2,35	0,315	0,195 - 0,605
R I P -Programm	43,29	28,71-62,31	364,3	193,0-598,9	34,5	7,64	1,91	0,285	0,185 - 0,501

Tab. 3: Mittelwerte, Standardabweichungen, Fehler des Mittelwertes bzw. Bereiche für die pharmakokinetischen Parameter, berechnet nach Anpassung an ein 1-Kompartimentmodell (Eliminationsprogramm) und ein 2-Kompartimentmodell (RIP-Programm).

M = Medianwert

r = Bereich

tauschbarer Pool- Pl und Transfer Tf) sind deshalb aus den einem 1-Kompartimentmodell angepaßten Kurvenverläufen berechnet und entsprechend dem 2-Kompartimentmodell korrigiert.

4.3.2. Vergleich der Phenylalanin-Nüchternwerte

Die vor jeder Phenylalaningabe bei allen Probanden morgens gemessenen Plasma-Phenylalaninwerte nach 12 Stunden Nahrungspause sind in den Tabelle 6 - 12 (Anhang) für jeden Probanden angegeben. Die Unterschiede der Werte, bestimmt bei gleichen Personen in Versuch I und II im Abstand von 1 Woche, sind gering, was auf geringe intraindividuelle Schwankungen der Phenylalaninkonzentrationen im Plasma hindeutet (Tabelle 4).

Die Plasma-Phenylalaninkonzentrationen der Heterozygoten vor Versuch I (n=8) unterscheiden sich nicht signifikant von denen der Normalpersonen. Beim Versuch II (s.Tabelle 4) besteht ein signifikanter Unterschied. Diese Differenz zwischen den beiden Versuchen beruht wahrscheinlich darauf, daß kleine Unterschiede der Phenylalanin-Nüchternkonzentration zwischen Normalpersonen und Phenylketonurie-Heterozygoten bestehen, die bei der Untersuchung kleiner Probandengruppen noch nicht erkannt werden können.

4.3.3. Phenylalanin-Kurzinfusion bei Normalpersonen (Versuchsansätze I und III, Versuch I)

In Tabelle 6 (Anhang) sind neben der Plasma-Phenylalaninkonzentration im Nüchternzustand (y_x) die

Normalpersonen n = 31					Heterozygote für Phenylketonurie n = 8				
	$\bar{x}$ mM	s mM	s^2 mM	Vk %	$\bar{x}$ mM	s mM	s^2 mM	Vk %	
Versuch I	0,059	0,013	0,002	3,39	0,064	0,010	0,004	6,25	t = 1,257, p > 0,2
Versuch II	0,059	0,011	0,002	3,39	0,072	0,013	0,004	5,56	t = 2,8814, p < 0,001
t = 0,0744, p > 0,9					t = 2,0464, p > 0,05				

Tab. 4: Vergleich der Plasmaphenylalanin-Nüchternwerte bei Normalpersonen und Heterozygoten für Phenylketonurie, bestimmt im Abstand von einer Woche (Versuch I und Versuch II).

fiktiven Konzentration bei Beginn der Elimination ($y_0 - y_x$) die Geschwindigkeitskonstante (k_2) und die daraus resultierende Halbwertszeit des Konzentrationsverlaufs ($t_{50\%}$), das relative Verteilungsvolumen (ΔV), die totale Clearance (Cl_{tot}), der austauschbare Pool (Pl) und der Transfer (Tf) aus den Verläufen des Versuchs I der Versuchsansätze I und III aufgeführt. Alle Parameter zeigen eine starke interindividuelle Variabilität. Die errechneten und korrigierten Mittelwerte, Bereiche, bzw. Standardabweichungen und Fehler des Mittelwertes sind in der Tabelle 5 zusammengefaßt.

4.3.4. Phenylalanin-Kurzinfusion mit verschiedenen Dosen bei Normalpersonen (Versuchsansatz IV, Versuch I und II)

Zum Vergleich dazu sind in Tabelle 7 (Anhang) die Parameter der Versuche I und II des Versuchsansatzes IV angegeben. Die Mittelwerte und Spannweiten für $t_{50\%}$ in beiden Versuchen sind in Versuch II niedriger als in Versuch I, ohne daß jedoch ein signifikanter Unterschied besteht (Tabelle 6).

Nimmt man vergleichsweise die Parameter des Versuchs I der Versuchsansätze I und III hinzu, so ergeben sich keine Unterschiede in der Eliminationshalbwertszeit. Die Medianwerte des relativen Verteilungsvolumens, der totalen Clearance, des austauschbaren pools und des Transfers scheinen etwas niedriger zu sein, wenn eine größere Menge an L-Phenylalanin infundiert wurde. Die Unterschiede sind jedoch nicht signifikant (Tabelle 7).

$t_{50\%}$ (min)		ΔV (liter/kg)				Cl_{tot} (ml/min)				Pl ($\mu\text{Mol/kg}$)			Tf ($\mu\text{Mol/kg/min}$)		
M	r	$\bar{x}$	$\bar{x}$ korr.	S	$S_{\bar{x}}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$ korr.	S	$S_{\bar{x}}$	M	M korr.	r	M	M korr.	r
81,31	64,5-146,3	0,73	0,61	0,18	0,04	384,9	321,4	105,9	25,0	38,97	32,50	26,9-73,7	0,304	0,275	0,196-0,585

Tab. 5: Mittelwerte bzw. Medianwerte, korrigierte Mittelwerte bzw. Medianwerte, Standardabweichungen, Fehler des Mittelwertes bzw. Bereiche für die Pharmakokinetischen Parameter aus den Versuchen I der Versuchsansätze I und III.

	$t_{50\%}$ (min)		ΔV liter/kg		Cl ml/min		Pl (μ Mol/kg)			Tf (μ Mol/kg/min)				
	M	r	M	M korr.	r	M	M korr.	r	M	M korr.	r			
Versuch I	86,8	46,3-132,1	0,86	0,64	0,70-1,27	417,9	385,7	337,3-670,0	40,9	35,8	32,6-62,2	0,333	0,289	0,27-0,605
Versuch II	84,4	76,1-11,90	0,67	0,56	0,63-0,94	383,2	368,2	203,5-500,0	36,8	32,8	30,0-52,1	0,280	0,258	0,195-0,473
Vergleich I u. II	n.s.		n.s.										n.s.	

Tab. 6 Medianwerte, korrigierte Medianwerte sowie Bereiche von $t_{50\%}$, ΔV , Cl_{tot} und Tf sowie Vergleich der korrigierten Medianwerte der Versuche I und II des Versuchsansatzes IV. Gleiche Bezeichnungen wie in Tab. 3

s. = signifikanter Unterschied
n.s. = nichtsignifikanter Unterschied
bei einem Niveau von = 0,02

V	Cl _{tot}	Pl	Tf
(l/kg)	(ml/min)	(μMol/kg)	(μMol/kg/min)
M kor.	M kor.	M kor.	M kor.
Versuchsansatz IV, Versuch I	0,64	35,8	0,289
Versuchsansatz I und III, Versuch I	0,61	32,5	0,275
Versuchsansatz IV, Versuch II	0,56	32,8	0,258
Vergleich IV/I mit I und III/I	n.s.	n.s.	n.s.
Vergleich I und III/I mit IV/II	n.s.	n.s.	n.s.

Tab. 7: Vergleich der korrigierten Medianwerte für V, Cl_{tot}, Pl und Tf zwischen den Versuchen I und II des Versuchsansatzes IV und Versuch I der Versuchsansätze I und III. Gleiche Bezeichnungen wie in Tabelle 3 und Tabelle 6.

Daraus ergibt sich, daß die infundierte Phenylalanindosis bei Kurzinfusion keinen wesentlichen Einfluß auf die Eliminationsgeschwindigkeit und andere pharmakokinetische Parameter hat.

4,3,5. Phenylalanin-Kurzinfusion bei Phenylketonurie-Heterozygoten (Versuchsansatz II, Versuch I):

Tabelle 8 (Anhang) zeigt die gleichen pharmakokinetischen Parameter aus den Verläufen des Versuchs I des Versuchsansatzes II. Auch hier sind die interindividuellen Unterschiede, sichtbar an den Spannweiten der einzelnen Parameter, erheblich. Der Medianwert der Halbwertszeit des Konzentrationsverlaufs ist deutlich, jedoch nicht signifikant, höher als der Medianwert der Normalpersonen unter gleichen Versuchsbedingungen. Die Extremwerte sind fast identisch. Das relative Verteilungsvolumen unterscheidet sich ebenfalls nicht signifikant von dem der Normalpersonen.

Signifikant niedriger ist die totale Clearance, bei den Heterozygoten gegenüber den Normalpersonen. Hier unterscheiden sich auch die Bereiche deutlich, und die meisten Werte der Heterozygoten liegen im für die Normalpersonen unteren Wertebereich.

Medianwerte und Spannbreite für den austauschbaren pool unterscheiden sich kaum von denen der Normalpersonen. Auch der bei den Heterozygoten berechnete Transfer unterscheidet sich nicht signifikant

vom Medianwert der Normalpersonen. Die meisten individuellen Werte der Heterozygoten liegen allerdings auch hier mehr im für die Normalpersonen unteren Wertebereich. (Tabelle 8). Draus ergibt sich, daß besonders die totale Clearance des Phenylalanins bei Phenylketonurie-Heterozygoten vermindert ist.

4.3.6. Phenylalaninlangzeitinfusion bei Normalpersonen (Versuchsansatz.III, Versuch II):

In der Tabelle 9 (Anhang) sind die pharmakokinetischen Parameter aus den Verläufen des Versuchs II des Versuchansatzes.III angegeben. Zu beachten ist, daß hierbei die totale Clearance und damit alle übrigen Parameter (relatives Verteilungsvolumen, austauschbarer pool und Transfer) aus der Infusionsgeschwindigkeit (v) und dem künstlich erhöhten Gleichgewicht (y_x) ermittelt wurden. Die Dauerinfusion war so berechnet, daß sich ein erhöhtes Gleichgewicht bei einer Phenylalaninkonzentration im Plasma von etwa 0,36 mM einstellen sollte. Wie an den Phenylalaninwerten unter der Infusion (y_x) zu erkennen ist, liegen die meisten Äquilibria über dem verausgerechneten Wert. Der Medianwert der Halbwertszeit des Konzentrationsverlaufs ist zwar höher als der Wert bei Elimination des in 10 Minuten infundierten L-Phenylalanins im Nüchternzustand (Versuch I des Versuchansatzes I und II), unterscheidet sich davon aber nicht signifikant. Das relative Verteilungsvolumen unterscheidet sich nicht signifikant vom Verteilungsvolumen bei Versuch I des

	$t_{50\%}$ (min.)		ΔV (l/kg)			Cl_{tot} (ml/min.)			Pl (μ Mol/kg)			Tf (μ Mol/min.)		
	M	r	M	M	r	M	M	r	M	M	r	M	M	r
Ver- suchs- ansatz II, Ver- such I	1024	633-1363	Q59	Q49	Q43-Q94	2489	2322	1813-4697	3982	3321	2331-6848	Q272	Q246	Q180-Q351
Ver- suchs- ansatz I+II, Ver- such I	813	645-1463	Q73	Q61	Q48-104	3849	3214	2027-5868	3897	3250	2690-7370	Q304	Q275	Q196-Q585

n.s.

n.s.

S.

n.s.

n.s.

Tab. 8: Vergleich der Werte der pharmakokinetischen Parameter zwischen den Versuchen I des Versuchsansatzes II und der Versuchsansätze I + III. Gleiche Bezeichnung wie in Tabelle 3 und Tabelle 6.

Versuchansatzes I und III. Bei der totalen Clearance findet sich jedoch ein signifikanter Unterschied zu den Werten im Versuch I des Versuchansatzes I und III. Die Werte für den austauschbaren pool unterscheiden sich wiederum kaum voneinander. Der Medianwert für den Transfer ist signifikant niedriger als in Versuch I des Versuchansatzes I und III (Tabelle 9). Dieses Verhalten wird bestätigt durch den intraindividuellen Vergleich der Versuche I und II des Versuchansatzes III: Die Medianwerte der Halbwertszeit des Konzentrationsverlaufes sind in Versuch II höher, jedoch ohne signifikanten Unterschied zu Versuch I. Das relative Verteilungsvolumen ist in Versuch I etwas niedriger, jedoch nicht signifikant. Das gleiche gilt für den austauschbaren pool. Signifikant niedriger in Versuch II sind die totale Clearance und der Transfer (Tabelle 10).

Dies bedeutet, daß durch eine länger dauernde Phenylalaninkonzentrationserhöhung Phenylalanin-Clearance und -Transfer vermindert werden.

4.3.7. Phenylalaninkurzinfusion bei Normalpersonen während eines künstlich erhöhten Phenylalaninspiegels (Versuchsansatz I, Versuch II):

In Tabelle 10 (Anhang) sind die pharmakokinetischen Parameter des Versuchs II des Versuchansatzes I zusammengefaßt. Das angestrebte künstliche Gleichgewicht y_x' war zum Teil niedriger, zum Teil höher ($M = 0,404 \text{ mM}$, $0,301\text{--}0,497 \text{ mM}$) als der vorausberechnete Wert von $0,36 \text{ mM}$ Phenylalanin im Plasma.

	$t_{50\%}$ (min)		ΔV (l/kg)		Cl_{tot} (ml/min)		Pl (μ Mol/kg)		Tf (μ Mol/kg KG/min)	
	M	r	M	r	M	r	M	r	M	r
Versuchs- ansatz III, Versuch II	96,3	77,6-139,2	0,70	0,45-0,94	319,2	292,3-410,4	36,25	24,26-58,28	0,263	0,195-0,355
Versuchs- ansatz I + III, Versuch I	81,31	64,5-146,3	0,73	0,48-1,04	384,9	202,7-586,8	38,97	26,90-73,70	0,304	0,196-0,585

n.s. n.s. s.

Tab. 9: Vergleich der pharmakokinetischen Parameter zwischen Versuch II des
Versuchsansatzes III und Versuch I der Versuchsansätze I und III.
Gleiche Bezeichnungen wie in Tabelle 3 und Tabelle 6.

	$t_{50\%}$ (min)		ΔV (l/kg)		Cl_{tot} (ml/min)		Pl ($\mu\text{mol/kg}$)		Tf ($\mu\text{mol/kg/min}$)	
	M	r	M	r	M	r	M	r	M	r
Versuch I	81,8	64,6-146,3	0,79	0,60-1,04	396,2	257,8-564,4	40,09	31,88-73,64	0,324	0,196-0,585
Versuch II	96,3	77,6-139,2	0,70	0,45-0,94	319,9	229,3-410,4	36,25	24,26-58,28	0,263	0,195-0,355

n.s.

n.s.

s.

n.s.

s.

Tab. 10: Vergleich der Werte der pharmakokinetischen Parameter zwischen Versuch I und II des Versuchsansatzes III. Gleiche Bezeichnung wie in Tabelle 3 und Tabelle 6.

Alle Werte wurden aus den Exzeßkurven über dem künstlichen Gleichgewicht mit dem hypothetischen Anfangswert $y_0 - y_x'$ berechnet. Die Annahme eines biexponentiellen Abfalls (2-Kompartimentmodell des Phenylalaninkonzentrationsverlaufs im Plasma) schien auch in dieser Versuchsanordnung gerechtfertigt, obgleich zur Modellcharakterisierung lediglich zwei geeignete Kurvenverläufe zur Verfügung standen.

Die Halbwertszeiten der Konzentrationsverläufe sind mit einer Ausnahme praktisch doppelt so lang wie in Versuch I. Das relative Verteilungsvolumen ΔV zeigt ein recht unterschiedliches Verhalten. Bei denjenigen Probanden, bei denen es in Versuch I über 0,6 (l/kg) lag, ist es in Versuch II deutlich niedriger. Der Abfall ist jedoch gering oder fehlt in Versuch II bei den Probanden mit einem niedrigen Verteilungsvolumen in Versuch I. Dadurch ist ΔV in Versuch II signifikant niedriger als in Versuch I.

Zwei- bis dreifach niedriger ist die totale Clearance in Versuch II gegenüber Versuch I. Niedriger ist auch der austauschbare pool in Versuch II. Auch hier findet sich bei den Probanden mit niedrigen Werten in Versuch I ein nur geringer oder fehlender Abfall in Versuch II. Der Transfer ist in Versuch II gleichmäßig etwa auf die Hälfte der Werte in Versuch I herabgesetzt (Tabelle 11).

Dies bestätigt, daß bei einem erhöhten Phenylalaninspiegel die Eliminationshalbwertszeit

	$t_{50\%}$ (min)		V (l/kg)			Cl_{tot} (ml/min)			Pl (μ Mol/kg KG)			Tf (μ Mol/kg KG/min)		
	M	r	M	M korr.	r	M	M korr.	r	M	M korr.	r	M	M korr.	r
Versuch I	81,3	70,0-112,8	0,69	0,58	0,48-0,92	359,1	335,0	202,7-586,8	38,28	31,93	26,91-51,15	0,300	0,271	0,227-0,407
Versuch II	150,7	80,3-220,8	0,48	0,40	0,34-0,61	162,0	151,2	81,88-210,6	26,38	22,0	19,15-33,48	0,127	0,115	0,093-0,190

S.

S.

S.

S.

S.

Tab. 11: Vergleich der Werte der pharmakokinetischen Parameter zwischen Versuch I und Versuch II des Versuchsansatzes I. Gleiche Bezeichnung wie in Tabelle 3 und Tabelle 6.

verlängert und Clearance und Transfer vermindert sind.

4.3.8. Phenylalaninkurzinfusion bei Phenylketonurie-Heterozygoten während eines künstlich erhöhten Phenylalaninspiegels (Versuchsansatz II, Versuch II):

Die Parameter aus dem Versuch II des Versuchsansatzes II sind in Tabelle 11 (Anhang) aufgelistet. Bei allen Probanden lag die Plasma-Phenylalaninkonzentration im künstlich erhöhten Gleichgewicht höher ($M = 0,546 \text{ mM}$, $r = 0,424 - 0,602 \text{ mM}$) als der angestrebte Wert ($0,36 \text{ mM}$), für den die notwendige Primo-Injektion und die Infusionsgeschwindigkeit berechnet worden war. Alle Parameter aus diesem Versuch unterscheiden sich deutlich von denen, die bei normalem Phenylalaninausgangsspiegel ermittelt worden. Der Medianwert der Halbwertszeit des Konzentrationsverlaufs ist hochsignifikant höher ($\leq 0,01$) als der Medianwert des Versuchs mit normalem Phenylalaninausgangsspiegel. Darüberhinaus ist die Eliminationshalbwertszeit bei den Heterozygoten noch signifikant höher als bei den Normalpersonen während des künstlich erhöhten Phenylalanin-gleichgewichts (Tabelle 12).

Die totale Clearance, die schon bei normalem Phenylalaninausgangsspiegel deutlich niedriger als bei den Normalpersonen war, ist bei erhöhtem Phenylalaninausgangsspiegel stark erniedrigt. Die Mittelwerte des austauschbaren pools unterscheiden sich dagegen nicht sehr stark.

	$t_{50\%}$ (min)		V (liter/kg)			Cl (ml/min)			Pl (μ Mol/kg KG)			Tf (μ Mol/kg KG/min)		
	M	r	M	M	r	M	M	korr.	r	M	M	M	M	r
Versuchs- ansatz II Versuch I	102,2	63,3-136,3	0,59	0,49	0,43-0,94	248,9	232,2		181,3-469,7	39,82	33,21	0,272	0,246	0,180-0,551
		s.			s.				s.					s.
Versuchs- ansatz II Versuch II	268,7	186,8-460,0	0,49	0,41	0,43-0,61	83,7	78,1		35,4-122,0	33,82	28,23	0,081	0,073	0,047-0,176
		s.			n.s.				s.					s.
Versuchs- ansatz I Versuch II	150,7	80,3-220,1	0,48	0,40	0,34-0,61	162,0	151,2		81,88-210,6	81,88	22,0	0,127	0,115	0,093-0,190

Tab. 12 Vergleich der Werte der pharmakokinetischen Parameter zwischen Versuch I und II des Versuchsansatzes II sowie zwischen den Versuchen II der Versuchsansätze II und I. Gleiche Bezeichnungen wie in Tabelle 3 und Tabelle 6.

Der aus den Verläufen des Versuchs mit künstlich erhöhtem Ausgangsspiegel ermittelte Transfer ist auf etwa ein Drittel des Mittelwertes der Werte erniedrigt, die bei normalem Phenylalaninausgangsspiegel ermittelt wurden.

In der Abbildung 10 sind noch einmal die pharmakokinetischen Parameter bei normalem und künstlich erhöhtem Phenylalaninausgangsspiegel der Normalpersonen (Versuchsansatz I) denjenigen der Heterozygoten (Versuchsansatz II) gegenübergestellt.

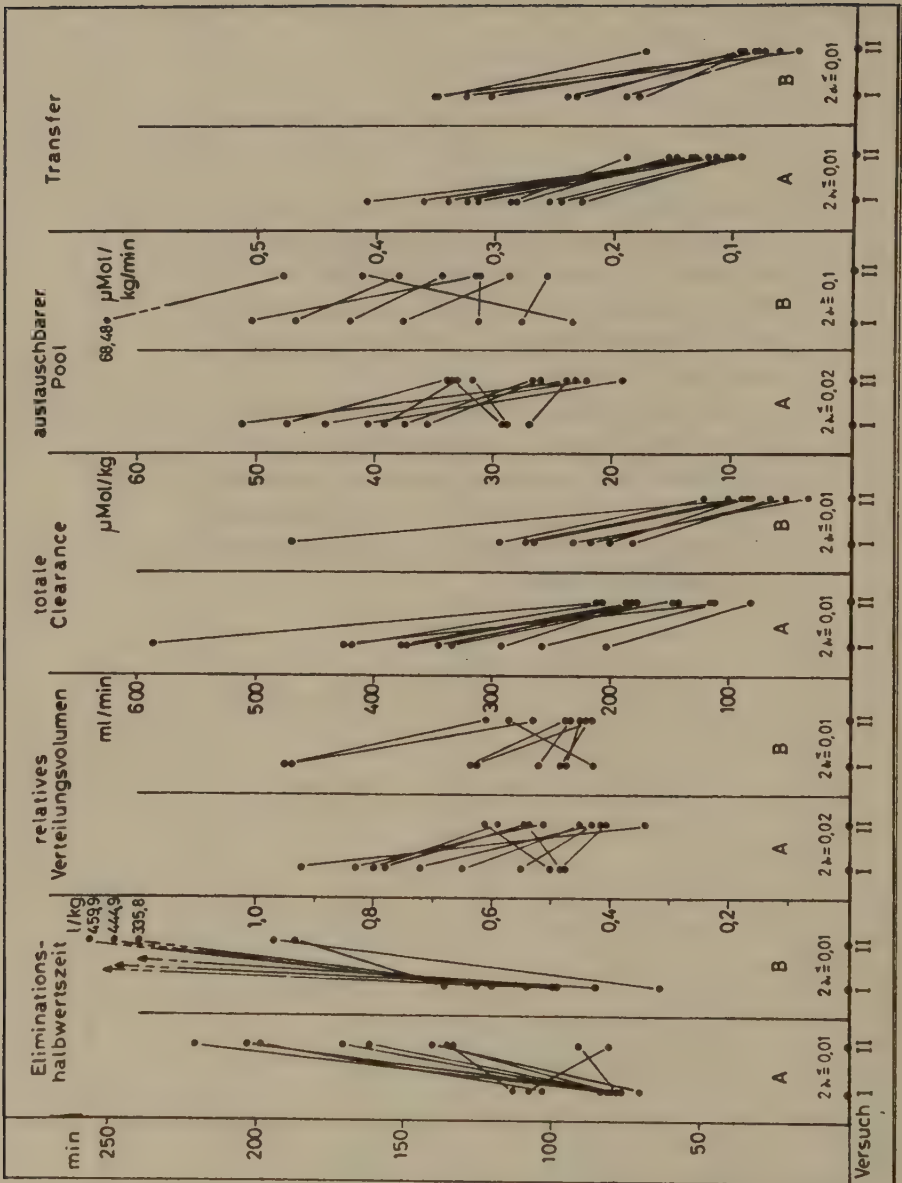


Abb. 10: Gegenüberstellung der pharmakokinetischen Parameter von Versuch I (10-minütige Infusion von 0,303 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht im Nüchternzustand) und von Versuch II (10-minütige Infusion von 0,303 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht während eines künstlich erhöhten Phenylalaningleichgewichts) bei Normalpersonen (A) und Phenylketonurie-Heterozygoten (B).

4.3.9. Langdauernde Phenylalanininfusion mit zwei verschiedenen Dosen (Versuchsansatz V):

Die Kurvenverläufe des Versuchsansatzes V wurden abschnittsweise ausgewertet. Die Infusion von 0,076 mMol L-Phenylalanin/min über 360 Minuten führt zu einem zunächst exponentiellen Anstieg der Plasma-Phenylalaninkonzentration, der nach etwa 120 Minuten einen flacheren Verlauf zeigt und etwa nach 240 Minuten sich einer Gleichgewichtskonzentration $y_x' = y' - y_x$ von 0,16 - 0,2 mM annähert. Nach Beendigung der Infusion fällt die Phenylalaninkonzentration bei 2 Probanden (G.P. und G.G.) in einer Weise ab, die am besten dem 2-Kompartimentmodell der Phenylalaninelimination entspricht.

Bei den Probanden M.K. und K.B. kann der Kurvenverlauf sowohl einer monoexponentiellen als auch einer biexponentiellen Kurve angeglichen werden.

Unter einer Infusion mit einer doppelt so großen Phenylalaninmenge steigt die Plasma-Phenylalaninkonzentration ebenfalls exponentiell an, um sich dann einer höheren Gleichgewichtskonzentration y_x' von etwa 0,4 bis 0,6 mM zu nähern. Der Konzentrationsabfall des Phenylalanins im Plasma ist in diesen Versuchen bei allen Probanden biexponentiell (Abbildung 11).

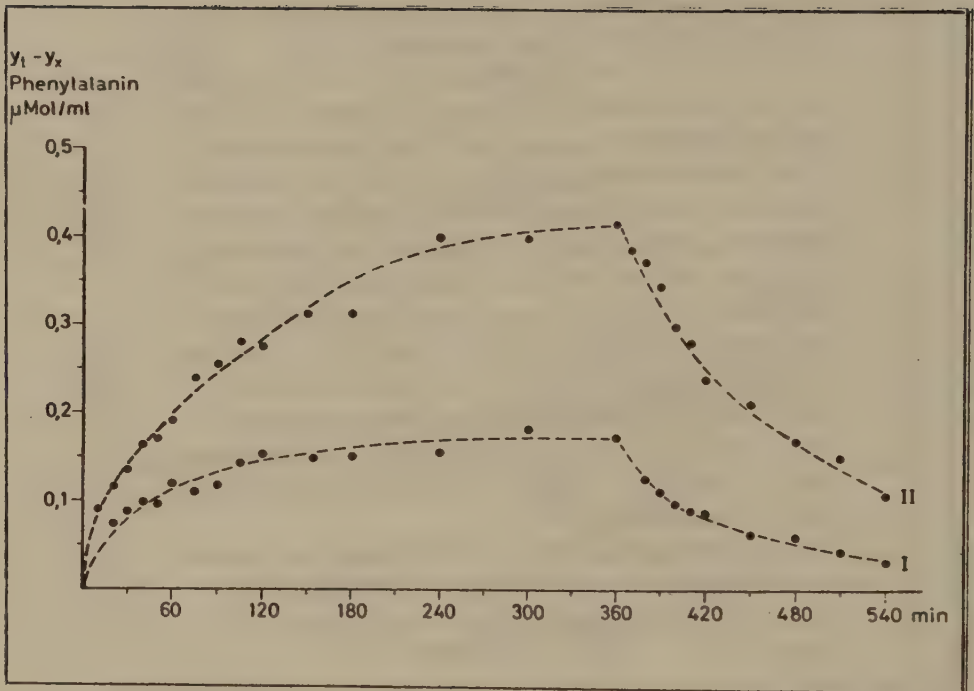


Abb. 11: Konzentrationsverlauf des Phenylalanins im Plasma bei einer Normalperson während und nach einer 360-minütigen Infusion von 0,076 mMol L-Phenylalanin/min (I) bzw. 0,152 mMol L-Phenylalanin/min (II).

Pharmakokinetische Parameter der Elimination aus beiden Versuchen sind in der Tabelle 12 (Anhang) aufgeführt. Zu beachten ist hier wiederum, daß die totale Clearance und damit auch der Transfer aus der Infusionsgeschwindigkeit v und dem Exzeßwert des künstlichen Äquilibrium $y' - y_x$ berechnet wurde.

Die Werte der Probanden U.E. wurden nicht berücksichtigt. Bei ihm kam es in Versuch II bei einer Infusion von 0,227 mM L-Phenylalanin/min nicht zu einem Gleichgewicht, sondern zu einem fast kontinuierlichen Anstieg der Phenylalanin-konzentration auf einen Exzeßwert $y' - y_x^X$ von 1,08 mM bei Beendigung der Infusion (Abbildung 12).

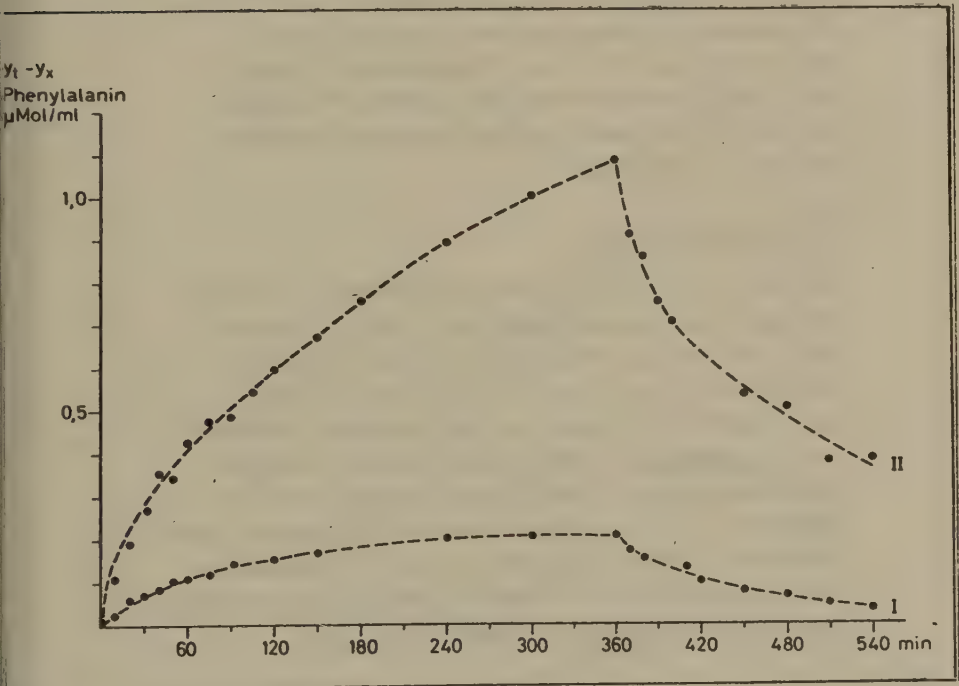


Abb. 12: Konzentrationsverlauf des Phenylalanins im Plasma bei einer Normalperson während und nach einer 360-minütigen Infusion von 0,076 mMol L-Phenylalanin/min (I) bzw. 0,227 mMol L-Phenylalanin/min (II).

In Versuch II (Verdopplung der Infusionsgeschwindigkeit v) sind die erreichten Gleichgewichtskonzentrationen y'_x der über dem Nüchternzustand angehobenen Plasma-Phenylalaninkonzentration fast dreimal so hoch wie bei einfacher Infusionsgeschwindigkeit. Die Geschwindigkeit der Konzentrationsabnahme nach Beendigung der Infusion ist hier bei drei von vier Probanden deutlich langsamer.

Die totale Clearance und der Transfer sind bei Verdopplung der Infusionsgeschwindigkeit bei allen Probanden zum Teil erheblich niedriger als bei einfacher Infusionsgeschwindigkeit (Tabelle 12 (Anhang)).

4.4. Sättigungskinetik

Die aus den initialen Anstiegskurven der beiden Versuche mit unterschiedlicher Phenylalaninzufuhr ermittelten Geschwindigkeitskonstanten k_i und die initialen Geschwindigkeiten $v = D \cdot k_i$ (D = applizierte Dosis im betrachteten Zeitraum) der vier Probanden sind in Tabelle 13 (Anhang) gegenübergestellt. Bei allen Probanden ist die Konstante k_i bei erhöhter Phenylalaninzufuhr etwas niedriger. Daraus resultiert eine in diesem Versuch proportional zur applizierten Dosis reduzierte initiale Eliminationsgeschwindigkeit v .

In Abbildung 13 sind die Reziprokwerte $\frac{1}{v}$ der Eliminationsgeschwindigkeit (y -Achse) gegen die korrespondierenden Reziprokwerte $\frac{1}{D}$ der applizierten Phenylalaninmenge nach LINEWEAVER und BURK (1934)

aufgetragen. Die erhaltenen Werte der einzelnen Probanden für v_{Max} und K_M sind in Tabelle 13 (Anhang) wiedergegeben.

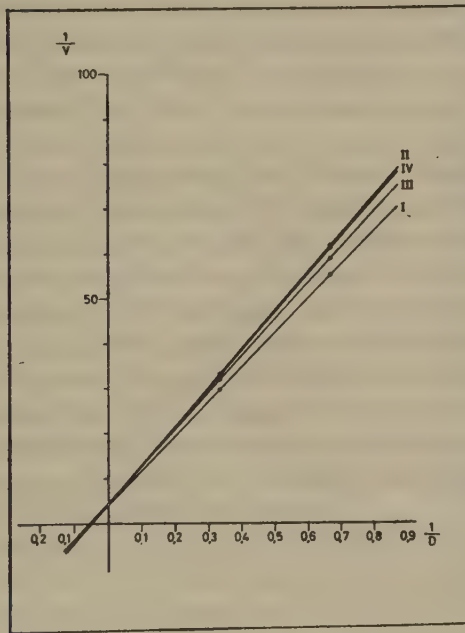


Abb. 13: Lineweaver-Burk-plot der initialen Eliminationsgeschwindigkeit v (mMol/min) gegen die applizierte L-Phenylalaninmenge D (Versuch I: 9,09 mMol; Versuch II: 18,18 mMol) bei vier Normalpersonen (I - IV).

4.5. Ausscheidung des infundierten L-Phenylalanins im Urin

Die Tabelle 14 (Anhang) zeigt die bei den Probanden des Versuchansatzes V (Phenylalanin-Infusion mit zwei verschiedenen Dosen) gemessene Phenylalaninausscheidung vor, während und nach den beiden Phenylalanininfusionen. Wegen der unterschiedlichen Urinmengen und der variablen Sammelzeiträume vor Beginn der Infusion wurde neben der Phenylalaninkonzentration (mM) die Ausscheidung im jeweiligen Zeitraum ($\mu\text{Mol}/\text{Zeit}$) sowie die auf 1 Stunde bezogene mittlere Ausscheidung ($\mu\text{Mol}/\text{Std.}$) berechnet. Bei aller individuellen Variabilität ist eine gewisse Proportionalität der Phenylalaninausscheidung zu der applizierten Menge zu erkennen. Die gegenüber dem Zeitraum vor Infusion noch deutlich erhöhte Ausscheidung in den 3 Stunden nach Beendigung der Infusion läßt vermuten, daß die prozentual zur intravenösen Gabe im Urin ausgeschiedene Phenylalaninmenge geringfügig höher als 0,11 - 0,3% sein dürfte.

5. DISKUSSION

Die vorliegenden Untersuchungen bestätigen, daß auch der Regelung des Phenylalaningleichgewichts eine Summe von Einzelmechanismen zugrunde liegt. Diese sind aus dem experimentell gefundenen und mathematisch interpretierbaren Konzentrationsverlauf des Phenylalanins nach Störung des Gleichgewichts durch Berechnung bekannter Parameter der Pharmakokinetik einzeln darstellbar.

Eine eindeutige Aussage erhält man nur dann, wenn durch die kurzfristige Gleichgewichtsstörung die Regelung des Gleichgewichts nicht beeinflußt wird (kein overload) (DOST, 1968; WAGNER und PERNAROWSKI, 1971; KUEMMERLE und Mitarbeiter, 1975; RITSCHEL, 1975). Zur Berechnung pharmakokinetischer Parameter kann also nur die Störung selbst, d.h. die kurzfristige Erhöhung der Konzentration und der Kurvenverlauf über dem Gleichgewichtszustand (Exzeßkurve), verwendet werden.

Dies wird nicht immer berücksichtigt, und dies ist bei der kurzfristigen Gabe markierter Substanzen wegen des Fehlens eines ursprünglich vorhandenen Gleichgewichts auch gar nicht möglich (DOST, 1968). Werden markierte Substanzen, wie z.B. deuteriertes Phenylalanin, in einer solchen Menge gegeben, daß eine Konzentrationserhöhung des Gesamt-Phenylalanins eintritt (TREFZ und Mitarbeiter, 1976; CURTIUS und Mitarbeiter, 1977), so wird der Konzentrationsverlauf

des markierten Phenylalanins auch durch einen Austausch mit dem unmarkierten Phenylalanin im Körperbestand und nicht nur durch Prozesse der normalen Gleichgewichtsregulation, wie die Metabolisierung, bestimmt (POLLITT³, 1978).

Das natürliche Phenylalanin-Gleichgewicht im Körper ist zu bestimmten Tageszeiten recht konstant, besonders dann, wenn die Proteinzufuhr gleichmäßig ist bzw. wenn bei fehlender Zufuhr der Abstand zur letzten Mahlzeit nicht zu groß war (WURTMAN und Mitarbeiter, 1968; FEIGIN und Mitarbeiter, 1968; WELLER und Mitarbeiter, 1969; ARMSTRONG und STAVE, 1973).

In der hier vorliegenden Untersuchung wurde die Gleichgewichtskonzentration des Phenylalanins im Plasma nach einer 10-stündigen Nahrungspause morgens zwischen 7 Uhr 30 und 8 Uhr 30 vor Versuchsbeginn bestimmt und angenommen, daß sie sich über den gesamten Versuchsablauf nicht ändert. Eine gewisse Bestätigung dieser Annahme kann man aus der Gleichheit der beiden im 6 - 7-tägigen Abstand gemessenen Werte sowie in der relativ geringen interindividuellen Variabilität sehen.

Die Verfolgung der Konzentrationsabläufe nach Applikation des L-Phenylalanins bis zum Wiedererreichen des Gleichgewichts war nicht möglich, da die Plasma-Phenylalaninkonzentration bei den gewählten Infusionsmengen am Ende der Meßzeit

höher als die Gleichgewichtskonzentration war. Drei Stunden nach Gabe von 0,303 mMol L-Phenylalanin/kg Körpergewicht lagen die Werte nur noch etwa 0,05 - 0,1 mM über dem Gleichgewicht. Die Kurve in diesem Bereich zeigte jedoch noch keine Annäherung an eine Asymptote, so daß ein weitergehender Konzentrationsabfall bis zum vorher gemessenen Gleichgewicht wahrscheinlich war.

5.1. Das pharmakokinetische Modell

Der Konzentrationsverlauf des Phenylalanins im Plasma nach Kurzinfusion ist biexponentiell. Das entspricht den Befunden bei vielen anderen Substanzen und der Vorstellung eines Zweikompartiment-Modells der Verteilung und Elimination (TEORELL, 1937; MATHEWS, 1957; NELSON, 1964; RIEGELMAN und Mitarbeiter, 1968 a; WAGNER und Mitarbeiter, 1968; MAYERSOHN und GIBALDI, 1971). Man muß sich jedoch darüber im klaren sein, daß dieses System eine Vereinfachung des tatsächlichen Ablaufs darstellt (v.HATTINGBERG und Mitarbeiter, 1977). Die Anzahl abgrenzbarer Kompartimente kann nur so groß sein wie die Anzahl meßbarer Substratbewegungen zwischen diesen Räumen (DOST, 1968). Von entscheidendem Einfluß sind hierfür die Versuchsbedingungen. Bei den hier durchgeführten Untersuchungen am Menschen sind Einschränkungen in der Versuchsdauer, in der Menge des zu applizierenden Substrats, in der methodisch bedingten Anzahl der Konzentrationsmessungen und vor allem in der Beschränkung auf ein Meßkompartiment (Blutplasma) notwendig.

Die Abgrenzung eines initialen Verlaufes y_{II} ist nur bei den Versuchen, in denen Substratkonzentrationen in kurzen Abständen gleich nach der Applikation gemessen werden, möglich (WAGNER und NORTHAM, 1967; RIEGELMAN und Mitarbeiter, 1968 a; NAGASHIMA und Mitarbeiter, 1968). Das mathematische Abschälen dieses Verlaufes vom gesamten Konzentrationsverlauf wird durch die Kurveniteration (v.HATTINGBERG und Mitarbeiter, 1977) erleichtert. In der vorliegenden Untersuchung war dieser Verlauf auch mit den relativ wenigen Meßwerten eindeutig zu belegen.

In den bisherigen Untersuchungen, in denen der Konzentrationsverlauf des Phenylalanins im Plasma als monoexponentiell angesehen wurde (BREMER und NEUMANN, 1966 a; WOOLF und Mitarbeiter, 1967 ; SCHNEIDER, 1973; FELL und Mitarbeiter, 1978; TREFZ und Mitarbeiter, 1978) konnte dieser Verlauf nicht erfaßt werden, weil in den ersten 30 bis 50 Minuten nach Phenylalaningabe keine Plasmaanalysen durchgeführt wurden bzw. die Analysenabstände zum Teil sehr groß waren.

Der initiale Verlauf ist charakterisiert durch einen schnellen Konzentrationsabfall des Phenylalanins im Plasma. Entsprechend einem Zwei-Kompartimentmodell der Verteilung und Elimination setzt er sich aus dem Abstrom des Phenylalanins vom zentralen ins periphere Kompartiment (Geschwindigkeitskonstante k_{12}) und der reinen Elimination aus dem zentralen Kompartiment (Konstante

k_{e1}) zusammen (GIBALDI und Mitarbeiter, 1969; MAYERSON und GIBALDI, 1971).

Einen zusätzlichen Einfluß hat der Rückstrom des Phenylalanins aus dem peripheren in das zentrale Kompartiment (Konstante k_{21}). Die Geschwindigkeiten des Abstroms aus dem zentralen Kompartiment, und des Rückstroms aus dem peripheren Kompartiment sind etwa gleich groß. Beide Komponenten dürften damit zu einem Gleichgewicht der Phenylalaninkonzentration zwischen beiden Kompartimenten führen. Dieser Punkt ist etwa 30 - 45 Minuten nach Beendigung der Phenylalaningabe erreicht, wenn die Geschwindigkeit des weiteren Konzentrationsabfalls zunehmend durch die Hybridkonstante k_4 des zweiten Verlaufes y_I bestimmt wird. Verteilungsprozesse innerhalb des zentralen Kompartiments sind wegen ihrer hohen Geschwindigkeit (PAPPENHEIMER und Mitarbeiter, 1951; RIEGELMAN und Mitarbeiter, 1968 a) wahrscheinlich schon zu Beginn des initialen Verlaufes y_{II} abgeschlossen und ohne Einfluß auf den weiteren Konzentrationsverlauf.

Bezogen auf die Gesamtkörpermasse, ist das zentrale Verteilungsvolumen für Phenylalanin (32% der Gesamtkörpermasse) größer als der extrazelluläre Flüssigkeitsraum (18%) (DOST, 1968). Es umfaßt also neben der Extrazellularflüssigkeit auch noch weitere Räume des Körpers.

Die Geschwindigkeit, mit der Phenylalanin und auch andere Aminosäuren aus der extrazellulären Flüssigkeit ins Zellinnere transportiert werden (ELWYN und Mitarbeiter, 1972; PARDRIDGE und

JEFFERSON, 1975; VALDIVIESO und Mitarbeiter, 1977; McKEE und Mitarbeiter, 1978), läßt vermuten, daß zum zentralen Kompartiment auch intrazelluläre Räume in einigen Bereichen des Körpers gehören. Dies könnte der vom sogenannten expandierbaren pool eingenommene Raum sein (MORGAN und PETERS, 1971; HENSHAW und Mitarbeiter, 1971; MORTIMORE, 1972; AIRHART und Mitarbeiter, 1974; McKEE und Mitarbeiter, 1978), aus dem die intrazellulär utilisierten Aminosäuren stammen (MORTIMORE und Mitarbeiter, 1972; McKEE und Mitarbeiter, 1978). Zum peripheren Kompartiment müßten dann weitere vom Körperwasser eingenommene Räume gehören, in die das Phenylalanin reversibel übertritt. Im Zustand des Pseudoäquilibrium (kein Konzentrationsausgleich) zwischen zentralem und peripherem Kompartiment dürfte nach den hier vorliegenden Untersuchungen das Gesamtverteilungsvolumen für Phenylalanin mit etwa 65% der Körpermasse dem Raum des Gesamtkörperwassers (EDELMAN und Mitarbeiter, 1952) entsprechen (siehe Tabelle 4, Anhang).

Der Vergleich der Geschwindigkeitskonstanten K_{12} (Ausstrom aus dem zentralen Kompartiment) und K_{21} (Einstrom in das zentrale Kompartiment) mit k_{el} (Elimination aus dem zentralen Kompartiment) zeigt, daß der initiale Verlauf y_{II} in seinem Ablauf zunächst mehr durch Verteilung als durch Elimination des Phenylalanins aus dem zentralen Kompartiment bedingt ist. Die reine Elimination, für sich betrachtet, verläuft jedoch immer noch mit größerer Geschwindigkeit als der zweite Verlauf y_I , der den Konzentrationsverlauf des Phenyl-

alanins im gesamten Verteilungsraum repräsentiert. Bei Anpassung des Konzentrationsverlaufs an ein 1-Kompartimentmodell kann diese Differenzierung nicht vorgenommen werden. Die dadurch bedingte Fehleinschätzung der Elimination ist erheblich, weil hierbei die Größen der einzelnen Verteilungsräume sowie die zwischen ihnen stattfindenden Konzentrationsabläufe nicht berücksichtigt werden (NELSON, 1964; De LAND und Mitarbeiter, 1966; WAGNER und NORTHAM, 1967). Die niedrigere Geschwindigkeit des Verlaufes y_T gegenüber der Geschwindigkeit der reinen Elimination (Konstante k_{el}) ist ein Hinweis dafür, daß für den Konzentrationsverlauf des Phenylalanins im gesamten Verteilungsraum auch andere Komponenten, wie Verteilungsphänomene von Einfluß sind (GIBALDI und Mitarbeiter, 1969). JAGENBURG und Mitarbeiter (1977 a) fanden in ihrer Untersuchung bei Normalpersonen und Phenylketonurie-Heterozygoten ein ähnliches Verhältnis der Konstanten K_{el} und β zueinander (3:1). Sie ermittelten für k_{el} einen Mittelwert von 0,022/min bei Normalpersonen ($n = 26$). Der bei Phenylketonurie-Heterozygoten gefundene Wert (0,014/min bei acht Männern bzw. 0,017/min bei sechs Frauen) war signifikant niedriger.

Ein Verhältnis der Konstanten k_{el} und β von 2,5:1 ist bei zahlreichen Medikamenten bekannt (RIEGELMAN und Mitarbeiter, 1968 a). Bei Substanzen dagegen, die sich mehr im peripheren Kompartiment verteilen,

wie z.B. Digitoxin, ist die Konstante k_{el} 15- bis 40mal größer als die Konstant β (OKITA und Mitarbeiter, 1965; RIETBROCK und ABSHAGEN, 1973).

5.2. Mechanismen der Elimination

Die Wiederherstellung des natürlichen Phenylalanningleichgewichts dürfte im wesentlichen durch die Geschwindigkeit und Richtung des Transports durch Membranen, durch die Größe der Proteinsynthese und durch die Metabolisierung bestimmt werden. Die für Phenylalanin bevorzugten Transportsysteme bewirken einerseits mittels uphill-Transport einen schnellen Ausgleich zwischen extra- und intrazellulärer Phenylalaninkonzentration (A-System; OXENDER und CHRISTENSEN, 1963; ROSENBERG und DOWNING, 1965; LeCAM und FREYCHET, 1977; FEHLMANN und Mitarbeiter, 1979), unterliegen andererseits jedoch einer Adaptation (L-System; LACY, 1970; OXENDER und Mitarbeiter, 1977; GUIDOTTI und Mitarbeiter, 1978; KELLY und Mitarbeiter, 1978), die eine Transportumkehr vom intrazellulären in den extrazellulären Raum zeigt, sobald sich die jeweiligen Konzentrationen anzugleichen beginnen.

Die Geschwindigkeit des Phenylalanineinbaus in Protein geht nicht parallel der Erhöhung der extrazellulären (McKEE und Mitarbeiter, 1978) oder intrazellulären Konzentrationen (LOFTFRIELD und HARRIS, 1956; WOODSIDE und MORTIMORE, 1972; MORTIMORE, 1972). Sie erreicht schon ein Maximum, bevor der expandierbare pool an die extrazelluläre Konzentration angeglichen ist (WINKLER, 1972; AIRHART und

Mitarbeiter, 1974; McKEE und Mitarbeiter, 1978). Bei der Proteolyse wird Phenylalanin auch wieder freigesetzt, das zum Teil den Bestand anderer zellulärer Kompartimente bestimmt (MORTIMORE und Mitarbeiter, 1972).

Die enzymatische Umwandlung von Phenylalanin in Tyrosin ist irreversibel (GRAU und STEELE, 1954). Das Phenylalanin-Hydroxylase-System ist beim Menschen fast ausschließlich in der Leber lokalisiert (MURTHY und BERRY, 1975). Die Reaktionsgeschwindigkeit und die Kinetik der Phenylalanin-Hydroxylierung wird, wie in der Einleitung dargelegt, durch verschiedene Faktoren reguliert. Untersuchungen an Leberschnitten (MILSTIEN und KAUFMAN, 1975 a), perfundierten Rattenlebern (YUDIM und Mitarbeiter, 1975) und an lebenden Ratten (MILSTIEN und KAUFMAN, 1975 b) zeigen, daß die Hemmkonzentration des Enzymsystems unter physiologischen Bedingungen nicht den in vitro gemessenen Werten entspricht. Die enzymatische Metabolisierung in der Leberzelle ist der wesentliche Schritt der Elimination. Die Lokalisation könnte ein Hinweis dafür sein, daß die Phenylalaninhydroxylierung im zentralen Kompartiment abläuft. Die Geschwindigkeit der Elimination aus diesem Raum (Konstante k_{el}) wäre dann proportional der Enzymaktivität.

Bei der Beurteilung von Konzentrationsverläufen einiger Substanzen spielt die Ausscheidung in den Urin und in die Gallenflüssigkeit eine zusätzliche Rolle. Der in der vorliegenden Untersuchung festgestellte geringe Anteil des über den Urin aus dem

Körperbestand entfernten Phenylalanins rechtfertigt die Vernachlässigung dieser Komponente. Die tubuläre Reabsorption beim Menschen zeigt selbst bei den hohen Konzentrationen, die unbehandelte Patienten mit Phenylketonurie haben, noch kein Maximum und beträgt 96-99% der filtierten Menge (BRODEHL und Mitarbeiter, 1968; BRODEHL und Mitarbeiter, 1970). Geringe renale Phenylalaninverluste wurden auch schon in anderen Untersuchungen festgestellt (GRÜMER und Mitarbeiter, 1961; WOOLF und Mitarbeiter, 1967; JAGENBURG und Mitarbeiter, 1977 a).

5.3. Kinetische Parameter

5.3.1. Fiktive Anfangskonzentration

Die fiktiven Plasma-Phenylalaninkonzentrationen zu Beginn des Konzentrationsabfalls unterscheiden sich je nach dem zugrunde gelegten Kompartimentmodell. Der Wert C_0 ist gleich der Summe der Achsenabschnitte A und B zu dem Zeitpunkt, an dem das applizierte Phenylalanin lediglich den Raum des zentralen Kompartiments einnimmt. Bei Zugrundelegen eines monoexponentiellen Verlaufs wird der Wert $y_0 - y_x$ berechnet. Er entspricht formal der fiktiven Anfangskonzentration im gesamten Verteilungsraum, die im 2-Kompartiment-Modell durch den Wert B repräsentiert wird.

Der Wert C_0 der fiktiven Anfangskonzentration wird zur Berechnung der Verteilungsvolumina benötigt. Der bei Verwendung eines 1-Kompartimentmodells erhaltene Wert $y_0 - y_x$ wird etwa um den Betrag A zu

niedrig berechnet. Die nachträgliche Korrektur der aus den monoexponentiellen Kurvenverläufen berechneten pharmakokinetischen Parameter war darum, auch aus der guten Übereinstimmung zwischen der Konstanten k_2 (Eliminationsprogramm, monoexponentieller Verlauf) und der Konstanten k_1 (RIP-Programm, biexponentieller Verlauf), berechtigt.

Aus der weiter oben dargelegten Komplexität des Konzentrationsverlaufs im Meßkompartiment Blut-plasma ist es verständlich, daß weder die fiktive Anfangskonzentration noch irgend eine gemessene Einzelkonzentration zu Beginn oder im Verlauf der Konzentrationskurve ein Maß für die Eliminationsfähigkeit oder sogar für die Phenylalaninhydroxylase-Aktivität sein können.

Noch komplexer ist ein Einzelwert im Anfangsteil eines Konzentrationsverlaufs nach oraler Gabe. Im ansteigenden Teil dieser Kurve überwiegt noch die Invasion (DOST, 1953; 1968) über die Komponenten der Verteilung und Elimination. Im Kurvenmaximum halten sich Invasion, Verteilung und Elimination die Waage. Erst im späteren Teil der absteigenden Kurve gilt die Invasion als abgeschlossen. Dies muß bei der Berechnung der Kurvenfunktion berücksichtigt werden (Bateman-Funktion). Die Unterschiede hinsichtlich des Zeitpunktes maximaler Phenylalaninwerte nach oraler Phenylalaninbelastung, der in den verschiedenen Untersuchungen gefunden wurde, lassen sich durch das Verhältnis von Invasion zu Verteilung und Elimination und besonders

durch den Einfluß einer eventuell begrenzten Resorptionskapazität (KÜBLER, 1977) erklären.

5.3.2. Einfluß der applizierten Phenylalaninmenge

Die biologische Halbwertszeit $t_{50\%}$, errechnet aus der Geschwindigkeitskonstanten k , gilt als wichtige Größe zur Beurteilung der Gleichgewichtserhaltung und Wiederherstellung nach einer Störung (DOST, 1953; 1968). Sie war in der vorliegenden Untersuchung für die verschiedenen applizierten Phenylalaninmengen (0,152 mMol/kg, 0,303 mMol/kg und 0,455 mMol/kg) etwa gleich groß. Einen gewissen Einfluß scheint die Dosis auf den Verteilungsraum, in geringem Maße auch auf die totale Clearance, den austauschbaren pool und den Transfer zu haben. Die große individuelle Variabilität dieser Parameter läßt jedoch eine sichere Aussage nicht zu.

5.3.3. Kenngrößen der Phenylalanin-Metabolisierung

Im Vergleich zu den Normalpersonen ist bei den Phenylketonurie-Heterozygoten die Halbwertszeit durchschnittlich etwas länger.

Gesamtverteilungsraum und frei austauschbarer pool sind kaum kleiner bzw. gleich groß wie bei Normalpersonen. Diese Ergebnisse widerlegen die Ansicht, daß der Verteilungsraum bei Heterozygoten verkleinert sei (WOOLF und Mitarbeiter, 1967) und den Kurvenverlauf beeinflußt (NELSON, 1965). Entscheidend für den verlangsamten Konzentrationsverlauf sind die im Mittel erniedrigten Werte für die totale Clearance und den Transfer ("metabolischer Durchfluß"; DOST, 1968). Die Ergebnisse von JAGENBURG und Mitarbeiter (1977 a) werden durch diese Untersuchungen bestätigt. Bei Patienten mit Leberzirrhose

ist die biologische Halbwertszeit länger als bei Normalpersonen und die totale Clearance kleiner (JAGENBURG und Mitarbeiter, 1977 b). Im Unterschied zu den Phenylketonurie-Heterozygoten (JAGENBURG und Mitarbeiter, 1977 a) ist bei ihnen die Geschwindigkeitskonstante k_{el} (Elimination aus dem zentralen Kompartiment) genau so groß wie bei Normalpersonen. Das zentrale Verteilungsvolumen ist dagegen im Mittel auf 50% des Wertes der Normalpersonen erniedrigt. Die totale Clearance wurde aus dem zentralen Verteilungsvolumen und der Geschwindigkeitskonstanten der reinen Elimination (aus dem zentralen Kompartiment) berechnet:

$$Cl_{tot} = V_c \cdot k_{el}$$

Bei den Patienten mit Leberzirrhose bewirkt danach die Verkleinerung des zentralen Kompartiments eine Einschränkung der totalen Clearance, während bei den Phenylketonurie-Heterozygoten eine langsamere Elimination aus dem zentralen Kompartiment die erniedrigte totale Clearance erklärt. Darum kann man folgern, daß nicht so sehr die Geschwindigkeit des Konzentrationsverlaufs im Gesamtverteilungsraum (Konstante k_1 bzw. k_2) (BREMER und NEUMANN, 1966 a; WOOLF und Mitarbeiter, 1967; TREFZ und Mitarbeiter, 1978; REY und Mitarbeiter, 1979), sondern die Geschwindigkeit der reinen Elimination aus dem zentralen Kompartiment mit der Fähigkeit eines Individuums, Phenylalanin zu metabolisieren, korreliert.

5.3.4. Einfluß der Applikationsdauer

Pharmakokinetische Parameter des Phenylalanins unterscheiden sich je nachdem, ob eine Kurzinfusion oder eine längerdauernde Phenylalanininfusion zur Erhöhung der Phenylalaninkonzentration verwendet wurde. Man könnte vermuten, daß die längerfristige Konzentrationserhöhung des Phenylalanins im Körper zu einem gegenüber der kurzzeitigen Infusion veränderten Konzentrationsverhältnis zwischen verschiedenen Kompartimenten geführt hat (GIBALDI, 1969) oder bestimmte kinetische Prozesse sich einem Maximum der Kapazität genähert haben (Sättigungskinetik). Einschränkung muß jedoch betont werden, daß die vorgenommene Berechnung der Parameter aus Daten eines künstlichen Fließgleichgewichtes umstritten ist und wahrscheinlich nicht ohne weiteres mit den Werten aus dem pharmakokinetischen Grundversuch verglichen werden kann (GARRETT, 1975).

5.3.5. Einfluß eines erhöhten Gleichgewichts

Bei künstlicher Erhöhung des Phenylalaningleichgewichts ist der metabolische Durchfluß (totale Clearance und Transfer) einer intravenös applizierten Phenylalaninmenge deutlich vermindert, während das Gesamtverteilungsvolumen und der austauschbare pool weniger oder kaum verändert werden. Dieser Effekt ist besonders ausgeprägt bei Phenylketonurie-Heterozygoten. Die rechnerische Ermittlung des zentralen Verteilungsvolumens und der reinen Elimination aus dem zentralen Kompartiment war wegen der Anzahl der Meßwerte nicht

möglich. Anzunehmen ist jedoch, daß bei den Normalpersonen beide Größen und bei den Heterozygoten besonders die reine Elimination aus dem zentralen Kompartiment stark erniedrigt ist. Die Vermutung liegt nahe, daß die künstliche Erhöhung des Phenylalanin-Gleichgewichts zu einer Annäherung einiger kinetischer Prozesse an eine Kapazitätsgrenze geführt hat (Sättigungskinetik). Beispielsweise könnten Transportprozesse betroffen sein, deren Richtung, Geschwindigkeit und Kapazität von der Höhe sowohl der intra- wie extrazellulären Phenylalaninkonzentration beeinflusst wird (CHRISTENSEN, 1969; 1973; OXENDER und Mitarbeiter, 1977; GUIDOTTI, 1978; FEHLMANN und Mitarbeiter, 1979). Es ist außerdem anzunehmen, daß die Proteinsynthese in den Zellen nicht parallel zum erhöhten Phenylalaninangebot steigt (LOTFIELD und HARRIS, 1956; GAN und JEFFAY, 1967; WOODSIDE und MORTIMORE, 1972; STAKEBERG und Mitarbeiter, 1973; McKEE und Mitarbeiter, 1978). Schließlich ist als wesentliche Ursache die Annäherung der Hydroxylierungsgeschwindigkeit an ein Maximum denkbar. Dafür spricht besonders die Tatsache, daß der Effekt des erhöhten Gleichgewichts bei Phenylketonurie-Heterozygoten besonders ausgeprägt ist. Die Tyrosinbildung erreicht offenbar im intakten Organismus erst bei wesentlich höheren Phenylalaninkonzentrationen, als in den hier vorliegenden Untersuchungen angestrebt wurde, ein Maximum (YOUDIM und Mitarbeiter, 1975). Die während des künstlich erhöhten Gleichgewichts erreichten Phenylalaninkonzentrationen müssen dem-

nach als submaximale Konzentrationen im Sinne der MICHAELIS-MENTEN-Kinetik angesehen werden (AHLERS, 1974).

Eine Verminderung des metabolischen Durchflusses in Abhängigkeit von der Phenylalaninkonzentration in submaximalen Bereichen wird durch die Ergebnisse des Versuchsansatzes V erhärtet. Das bei der Verdoppelung der Infusionsgeschwindigkeit erreichte Plateau ist etwa dreimal so hoch wie bei niedriger Infusionsgeschwindigkeit. Zwischen der Einströmgeschwindigkeit, v , einer Substanz und der Höhe des erreichten Plateau, y_x , gilt die Beziehung:

$$v = Cl_{\text{tot}} \cdot y_x$$

Die Verdoppelung der Einströmgeschwindigkeit hätte also bei konstanter totaler Clearance eine Verdoppelung der Plateauhöhe ergeben müssen. Noch stärker ist der Effekt einer Verdreifachung der Infusionsmenge (Proband U.E., Abb. 12). Hierunter steigt die Phenylalaninkonzentration im Plasma während der gesamten Infusionsdauer im Vergleich zur langsameren Infusion laufend an, so daß innerhalb der Versuchsdauer kein Gleichgewicht erreicht wird. Der Endwert bei Abbruch der Infusion liegt mehr als fünfmal so hoch wie das bei der langsamen Infusion erreichte Plateau. Offenbar ist hierbei die Eliminationsgeschwindigkeit gegenüber der Infusionsgeschwindigkeit so niedrig, daß kein Ausgleich zwischen Phenylalanineinstrom (Infusion) und Ausstrom (Verteilung und Elimination) stattfindet.

Auch die Auswertung des Konzentrationsverlaufs nach Abbruch der Infusion zeigt den Einfluß hoher Phenylalaninkonzentrationen auf die biologische Halbwertszeit und die Größen des metabolischen Durchflusses.

5.3.6. Konstanten der Sättigungskinetik

Die Berechnung von Maximalwerten zur Darstellung einer Sättigungskinetik der Phenylalaninelimination wurde in Analogie zu kinetischen Untersuchungen bei enzymatischen Reaktionen vorgenommen. Die initiale Eliminationsgeschwindigkeit wurde aus dem initialen Konzentrationsanstieg während einer Phenylalanin-Dauerinfusion ermittelt.

Dies hat gegenüber der Kurzinfusion den Vorteil, daß Verteilungsvorgänge nur eine geringe Rolle spielen und der Konzentrationsverlauf im halb-logarithmischen Raster auch bei Verteilung in mehrere Kompartimente angenähert linear ist. (GLADTKE und v.HATTINGBERG, 1977). Zum anderen sollte die Phenylalaninkonzentration im Plasma auch bei Infusion größerer Mengen im submaximalen Bereich bleiben und keinesfalls einen Wert erreichen, bei dem eine Substrathemmung des Enzymsystems auch in vivo auftritt. Diese Beschränkung und der für die Probanden eingreifende Versuchsablauf sind der Grund, weshalb Eliminationsgeschwindigkeiten lediglich bei zwei Konzentrationen ermittelt wurden und die Linearität der Regressionsgeraden im Lineweaver-Burk-plot wenig gesichert ist. Als Argument für eine Linearität ist die geringe interindividuelle Variabilität der Geraden

und der Maximalwerte zu werten.

Die erhaltenen Werte charakterisieren die Kinetik der Phenylalaninelimination aus dem Gesamtverteilungsraum. Das kleine Probandenkollektiv erlaubt keine allgemeingültige Aussage. Vorausgesetzt, die Phenylalanin-Elimination würde unter den Bedingungen submaximaler Konzentrationen, bei denen die Kinetik der Transportvorgänge und der Proteinsynthese zu vernachlässigen wäre, durch die Umwandlung in Tyrosin erfolgen, dann könnte man die erhaltenen Werte als in vivo bestimmte Enzymkonstanten des Hydroxylase-Systems betrachten. Die V_{Max} -Werte liegen aber viel höher als die an Leberextrakten gefundenen Werte (FRIEDMAN und KAUFMANN, 1973); noch deutlich höher sind sie, verglichen mit den Umsatzraten in menschlichen Leberbiopsieproben (BARTHOLOMÉ und Mitarbeiter, 1975). Sie liegen jedoch in dem Bereich, der in perfundierten Rattenlebern bestimmt wurde (YOUDIM und Mitarbeiter, 1975) (V_{Max} -Wert: $0,6 \mu\text{Mol/kg Leber/min}$).

Der in der vorliegenden Untersuchung ermittelte " K_M "-Wert unterscheidet sich beträchtlich von dem in vitro gemessenen Werten (FRIEDMAN und KAUFMANN, 1973; MILSTIEN und KAUFMANN, 1975 a; YOUDIM und Mitarbeiter, 1975).

Der " K_M "-Wert in den vorliegenden Untersuchungen ist eine Substanzmenge ($\frac{1}{D}$ im Lineweaver-Burk-plot), die sich im Kompartiment, aus dem sie eliminiert wird, verteilt.

Wenn der zugehörige Raum für die metabolische Elimination das zentrale Verteilungsvolumen (etwa 32% der Körpermasse) ist, dann würde dieser Wert, als Konzentration in diesem Volumen angegeben, bei Proband D.P. 5,52 mM, bei Proband G.G. 5,74 mM, bei Proband M.K. 6,27 mM und bei Proband K.B. 5,9 mM betragen. Diese Werte sind damit etwa viermal höher als die K_M -Werte, die an Enzymextrakten nach Zugabe affinitätsverändernder Stimulatoren und an intakten Geweben und Organen gemessen wurden (FRIEDMAN und KAUFMAN, 1973; MILSTIEN und KAUFMAN., 1975 a; YODIM und Mitarbeiter, 1975). Weit größere Diskrepanzen zwischen in vitro gemessenen kinetischen Konstanten und den in vivo festgestellten Werten sind allerdings bei der Kinetik des intestinalen Glukosetransportes beschrieben worden (CASPARY, 1975; READ und Mitarbeiter, 1977). Die in der vorliegenden Untersuchung berechneten V_{Max} - und " K_M "-Werte sollten entsprechend der Komplexität von Eliminationsprozessen nicht als in vivo bestimmte kinetische Konstanten des Phenylalaninhydroxylasesystems der menschlichen Leber, sondern als Indiz für eine Sättigungskinetik der Phenylalaninelimination angesehen werden.

Als wesentlicher Befund bleibt, daß die Höhe der Phenylalaninkonzentration im Körper von erheblicher Bedeutung für die Geschwindigkeit einer Phenylalanin-Konzentrationsänderung oder die Wiederherstellung eines gestörten Gleichgewichts ist und deshalb bei der Beurteilung von Konzentrationsverläufen mehr beachtet werden sollte.

6. Z U S A M M E N F A S S U N G

Die Pharmakokinetik des Phenylalanins ist unzureichend geklärt. Aus diesem Grunde wurden in dieser Arbeit pharmakokinetische Parameter unter verschiedenen Bedingungen an Normalpersonen und Phenylketonurie-Heterozygoten ermittelt. Dabei interessierte besonders, ob ähnlich wie beim Abbau des Phenylalanins durch das Phenylalaninhydroxylase-System eine Hemmung der Elimination durch hohe Phenylalaninkonzentrationen eintritt und ob pharmakokinetische Parameter des Phenylalanins bei Phenylketonurie-Heterozygoten gegenüber Normalpersonen verändert sind.

Der Konzentrationsverlauf des Phenylalanins im Plasma ist biexponentiell mit einem initial raschen Konzentrationsabfall, gefolgt von einem wesentlich langsameren Verlauf. Dies entspricht einem offenen 2-Kompartimentmodell der Verteilung und Elimination. Das Phenylalanin verteilt sich zunächst nach intravenöser Gabe rasch im zentralen Kompartiment, das - mit einem relativen Verteilungsvolumen von 32% der Gesamtkörpermasse - aus dem Extrazellulärraum und einem intrazellulären Kompartiment (dem sogenannten expandierbaren pool) besteht. Von hier strömt das Phenylalanin reversibel in ein peripheres Kompartiment, das zusammen mit dem zentralen Kompartiment den Raum des Gesamtkörperwassers einnimmt. Danach sind beide Anteile des biexponentiellen Konzentrationsverlaufs zusammengesetzte Größen aus Verteilung und reiner Elimination.

Die reine Elimination erfolgt aus dem zentralen Kompartiment, verläuft etwa dreimal schneller als

der Konzentrationsverlauf im Plasma nach Erreichen eines Pseudogleichgewichts der Verteilung und könnte mit dem enzymatischen Abbau in der Leber korrelieren.

Die Halbwertszeit des Konzentrationsverlaufs im Plasma, das Verteilungsvolumen, die totale Clearance, der austauschbare pool und der Transfer werden durch Änderung der infundierten L-Phenylalaninmenge (0,152 mMol/kg Körpergewicht, 0,303 mMol/kg Körpergewicht oder 0,455 mMol/kg Körpergewicht) nicht wesentlich beeinflusst.

Bei den Phenylketonurie-Heterozygoten sind die totale Clearance und der Transfer gegenüber Normalpersonen signifikant erniedrigt.

Erfolgt die Phenylalanininfusion über einen längeren Zeitraum (150 Minuten), so sind totale Clearance und Transfer niedriger, wobei jedoch ein Vergleich zwischen Kurzinfusion und länger dauernder Gabe umstritten ist.

Erfolgt die Phenylalaningabe bei künstlich erhöhten Spiegeln im Körper, so findet man die Halbwertszeit verlängert. Die totale Clearance und der Transfer sind gegenüber dem Normalzustand stark erniedrigt. Dies ist bei Phenylketonurie-Heterozygoten besonders ausgeprägt.

Bei der Steigerung der Menge des infundierten Phenylalanins findet man keine proportionale Zunahme

der Eliminationsgeschwindigkeit.

Der Nachweis einer Sättigungskinetik zeigt, daß die Kapazität der Phenylalaninelimination beim Menschen begrenzt ist.

Nach den hier vorliegenden Untersuchungen verhalten sich Phenylketonurie-Heterozygote gegenüber Normalpersonen hinsichtlich bestimmter pharmakokinetischer Parameter verschieden. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob dieses differente Verhalten für verlässliche Heterozygoten-Tests benutzt werden kann.

L i t e r a t u r - V e r z e i c h n i s

1. Abderhalden, E., v.Körösy, K., London, E.S.:
Weitere Studien über die normale Verdauung der
Eiweißkörper im Magendarmkanal des Hundes. 3.
Mitteilung.
Z.Physiol.Chem. 53, 148-163, 1907
2. Abita, J.-P., Milstien, S., Chang, N., Kaufman, S.:
In vitro activation of rat liver phenylalanine
hydroxylase by phosphorylation.
J.Biol.Chem. 251, 5310-5314, 1976
3. Adibi, S.A., Gray, S.J.:
Intestinal absorption of essential amino acids in
man.
Gastroenterology 52, 837-845, 1967
4. Adibi, S.A., Gray, S.J., Menden, E.:
The kinetics of amino acid absorption and alteration
of plasma composition of free amino acids after in-
testinal perfusion of amino acid mixtures.
Am.J.Clin.Nutr. 20, 24-33, 1967
5. Adibi, S.A.:
Interrelationships between level of amino acids in
plasma and tissues during starvation.
Am.J.Physiol. 221, 829-838, 1971
6. Adibi, S.A., Morse, E.L.:
Intestinal transport of dipeptides in man: Relative
importance of hydrolysis and intact absorption.
J.Clin.Invest. 50, 2266-2275, 1971

7. Ahlers, J., Arnold, A., v.Döhren, F.R., Peter, H.W.:
Enzymkinetik.
Fischer, Stuttgart 1974
8. Airhart, J., Vidrich, A., Khairallah, E.A.:
Compartmentation of free amino acids for protein synthesis in rat liver.
Biochem.J. 140, 539-548, 1974
9. Anderson, J.A., Gravem, H., Ertel, R., Fisch, R.:
Identification of heterozygotes with phenylketonuria on basis of blood tyrosine responses.
J.Pediatr. 61, 603-609, 1962
10. Armstrong, M.D., Low, N.L.:
Phenylketonuria VIII. Relation between age serum phenylalanine level, and phenylpyruvic acid excretion.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 94, 142-146, 1957
11. Armstrong, M.D., Stave, U.:
A study of plasma free amino acid levels.
I. Study of factors affecting validity of amino acid analyses.
Metabolism 22, 549-560, 1973
12. Aub, M.R., Waterlow, J.C.:
Analysis of a five-compartment system with continous infusion and its application to the study of amino acid turnover.
J.Theor.Biol. 26, 243-250, 1970
13. Barranger, J.A.:
The implications of multiple forms of phenylalanine hydroxylase in phenylketonuria and related diseases of phenylalanine metabolism.
Biochem.Med. 15, 55-86, 1976

14. Bartholomé, K., Lutz, P., Bickel, H.:
Determination of phenylalanine hydroxylase
activity in patients with phenylketonuria
and hyperphenylalaninemia.
Pediatr.Res. 9, 899-903, 1975
15. Bergström, J., Fürst, P., Norée, L.-O., Vinnars, E.:
Intracellular free amino acid concentration in
human muscle tissue.
J.Appl.Physiol. 36, 693-697, 1974
16. Berry, H., Sutherland, B., Guest, G.M.:
Phenylalanine tolerance tests on relatives of
phenylketonuria children.
Am.J.Hum.Genet. 9, 310-316, 1957
17. Bertalanffy, v., L.:
Der Organismus als physikalisches System betrachtet.
Naturwissenschaften 28, 521-531, 1940
18. Blaskovics, M.E.:
Hyperphenylalaninemic variants.
In: Treatment of inborn errors of metabolism.
Current treatment and future aspects.
Proc. 10th Symp. S.S.I.E.M., Hrsg. J.W.T. Seakins,
R.A. Saunders, C. Toothhill, pp. 29-29.
Churchill Livingstone, Edinburgh and London, 1973
19. Blaskovics, M.E.:
Phenylketonuria and other phenylalaninaemias. In:
Clinics in Endocrinology and Metabolism.
Hrsg. H. Bickel, pp. 87-105
W.B. Saunders, London-Philadelphia-Toronto, 1974

20. Blaskovics, M.E., Schaeffler, G.E., Hack, S.:
Phenylalaninaemia: Differential diagnosis.
Arch.Dis.Child. 49, 835-843, 1974
21. Blau, K., Summer, G.K., Newsome, H.C., Edwards, C.H.:
Phenylalanine loading and aromatic acid excretion
in normal subjects and heterozygotes for phenyl-
ketonuria.
Clin.Chim.Acta 45, 197-205, 1973
22. Blau, K., Goodwin, B., Woods, H.F. Youdim, M.B.H.:
Phenylethylamine formation in perfused rat liver.
Brit.J.Pharmacol. 58, 474 P, 1976
23. Booth, C.W., Nadler, H.L.:
Neutral amino acid transport in cultivated human
skin fibroblasts.
Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 148, 277-282, 1975
24. Borsook, H., Deasy, C.L., Haagen-Smit, A.J.,
Keighley, G., Lowy, P.H.:
Metabolism of C¹⁴-labeled glycine, L-histidine,
L-leucine and L-lysine.
J.Biol.Chem. 187, 839-848, 1950
25. Bremer, H.J., Neumann, W.:
Tolerance of phenylalanine after intravenous admini-
stration in phenylketonurics, heterozygous carriers,
and normal adults.
Nature 209, 1148-1149, 1966 a
26. Bremer, H.J., Neumann, W.:
Phenylalanin-Toleranz bei Frühgeborenen, reifen Neuge-
borenen, Säuglingen und Erwachsenen.
Klin.Wochenschr. 44, 1076-1081, 1966 b

27. Brodehl, J., Gellissen, K., Jäkel, A.:
Endogenous renal transport of free amino acids
in infancy and childhood.
Pediatrics 42, 395-404, 1968
28. Brodehl, J., Gellissen, K., Kaas, W.P.:
The renal transport of amino acids in untreated
infants with phenylketonuria.
Acta Paediatr.Scand. 59, 241-248, 1970
29. LeCam, A., Freychet, P.:
Neutral amino acid transport. Characterization of
the A- and L-systems in isolated rat hepatocytes.
J.Biol.Chem. 252, 148-156, 1977
30. Carlsten, A., Hallgren, B., Jagenburg, R.,
Svanborg, A., Werkö, L.:
Arterio-hepatic venous differences of free fatty
acids and amino acids. Studies in patients with
diabetes or essential hypercholesterolemia, and
in healthy individuals.
Acta Med.Scand. 181, 199-207, 1967
31. Caspary, W.F.:
Resorption von Kohlenhydraten und Proteinen unter
normalen und krankhaften Bedingungen.
Thieme, Stuttgart 1975
32. Christensen, H.N.:
Metabolism of amino acids and proteins.
Annu.Rev.Biochem. 22, 235-260, 1953
33. Christensen, H.N.:
A transport system serving for mono - and diamino
acids.
Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A. 51, 337-343, 1964

34. Christensen, H.N., Oxender, D.L., Liang, M., Vatz, K.A.:
The use of N-methylation to direct the route of mediated transport of amino acids.
J.Biol.Chem. 240, 3609-3616, 1965
35. Christensen, H.N.:
Methods for distinguishing amino acids transport systems of a given cell or tissue.
Fed.Proc. 25, 850-853, 1966
36. Christensen, H.N., Cullen, A.M.:
Effects of non-metabolizable analogs on the distribution of amino acids in the rat.
Biochim.Biophys.Acta 150, 237-252, 1967
37. Christensen, H.N.:
Some special kinetic problems of transport.
Adv.Enzymol. 32, 1-20, 1969
38. Christensen, H.N., de Cespedes, C., Handlogten, M.E., Ronquist, G.:
Energization of amino acid transport, studied for the Ehrlich ascites tumor cell.
Biochim.Biophys. Acta 300, 487-522, 1973
39. Christensen, H.N.:
On the development of amino acid transport systems.
Fed.Proc. 32, 19-28, 1973
40. Christensen, H.N.:
Towards a sharper definition of energetic coupling through integration of membrane transport into bioenergetics.
J.Theor.Biol. 57, 419-431, 1976

41. Colombo, J.P., Vassella, F.:
Das Aminosäurespektrum im Plasma bei der Phenylketonurie. Beeinflussung durch L-Phenylalanin- und L-Tyrosinbelastung.
Klin.Wochenschr. 46, 1215-1221, 1968
42. Crawhall, J.C., Segal, S.:
Transport of some amino acids and sugars in rat-liver slices.
Biochim.Biophys. Acta 163, 163-170, 1968
43. Cunningham, G.C., Day, R.W., Berman, J.L., Hsia, D. Y.-Y.:
Phenylalanine tolerance tests in families with phenylketonuria and hyperphenylalaninemia.
Am.J.Dis.Child. 17, 626-644, 1969
44. Curtius, H.-C., Zagalak, M.J., Baerlocher, K., Schaub, J., Leimbacher, W., Redweik, U.:
In vivo studies of the phenylalanine - 4 - hydroxylase system in hyperphenylalaninemics and phenylketonurics.
Helv.Paediatr.Acta 32, 461-469, 1977
45. Cusworth, D.C., Dent, C.E.:
Renal clearances of amino acids in normal adults and in patients with aminoaciduria.
Biochem.J. 74, 550-561, 1960
46. David, J.C., Dairman, W., Udenfriend, S.:
On the importance of decarboxylation in the metabolism of phenylalanine, tyrosine, and tryptophan.
Arch.Biochem.Biophys. 160, 561-568, 1974

47. Dettli, L.:
Der Konzentrationsbegriff in der Chemotherapie mit
Sulfanilamiden.
Arzneimittelforsch. 11, 861-866, 1961
48. Dickinson, J.C., Rosenblum, H., Hamilton, P.B.:
Ion exchange chromatography of the free amino acids
in the plasma of the newborn infant.
Pediatrics 36, 2-13, 1965
49. Donlon, J., Kaufman, S.:
Modification of the multiple forms of rat hepatic
phenylalanine hydroxylase by in vitro phosphoryla-
tion.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 78, 1011-1017, 1977
50. Donlon, J., Kaufman, S.:
Glucagon stimulation of rat hepatic phenylalanine
hydroxylase through phosphorylation in vivo.
J.Biol.Chem. 253, 6657-6659, 1978
51. Donner, D.B., Nakayama, K., Lutz, U., Sonenberg, M.:
The effects of bioregulators upon amino acid trans-
port and protein synthesis in isolated rat hypoto-
zytes.
Biochim.Biophys.Acta 507, 322-336, 1978
52. Dost, F.H.:
Die Clearance.
Klin.Wochenschr. 27, 257-264, 1949
53. Dost, F.H.:
Der Blutspiegel. Kinetik der Konzentrationsabläufe
in der Kreislaufflüssigkeit.
Thieme, Leipzig 1953

54. Dost, F.H.:
Grundlagen der Pharmakokinetik.
2. Auflg., Thieme, Stuttgart 1968
55. Edelman, J.S., Haley, H.B., Schloerb, P.R.
Sheldon, D.B., Friis-Hansen, B.J., Stoll, G.,
Moore, F.D.:
Further observations on total body water.
I. Normal values throughout life span.
Surg.Gynec.Obstet. 95, 1-12, 1952
56. Efron, M.L., Kang, E.S., Visakorpi, J.,
Fellers, F.X.:
Effect of elevated plasma phenylalanine levels
on other amino acids in phenylketonuric and
normal subjects.
J.Pediatr. 74, 399-405, 1969
57. Elwyn, D.H.:
Distribution of amino acids between plasma and
red blood cells in the dog.
Fed.Proc. 25, 854-861, 1966
58. Elwyn, D.H., Parikh, H.C., Shoemaker, W.C.:
Amino acid movements between gut, liver, and
periphery in unanesthetized dogs.
Am.J.Physiol. 215, 1260-1275, 1968
59. Elwyn, D.H., Launder, W.J., Parikh, H.C., Wise,
E.M.:
Roles of plasma and erythrocytes in interorgan
transport of amino acids in dogs.
Am.J.Physiol. 222, 1333-1342, 1972

60. Embden, G., Baldes, K.:
Über den Abbau des Phenylalanins im tierischen Organismus.
Biochem.Z. 55, 301-322, 1913
61. Farriaux, J.-P., Delabre, M.:
Le dépistage des hétérozygotes de la phénylcétonurie typique.
Arch.Fr.Pediatr. 29, 365-372, 1972
62. FAO: Nutritional studies N° 24:
Amino acid content of foods and biological data on proteins.
Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rom 1976
63. Fehlmann, M., Le Cam, A., Kitabgi, P., Rey, J.-F., Freychet, P.:
Regulation of amino acid transport in the liver.
J.Biol.Chem. 254, 401-407, 1979
64. Feigin, R.D., Klainer, A.S., Beisel, W.R.:
Circadian periodicity of blood amino-acids in adult men.
Nature (London) 215, 512-514, 1967
65. Feigin, R.D., Klainer, A.S., Beisel, W.R.:
Factors affecting circadian periodicity of blood amino acids in man.
Metabolism 17, 764-775, 1968
66. Feigin, R.D., Beisel, W.R., Wannemacher, R.W. jr.:
Rhythmicity of plasma amino acids and relation to dietary intake.
Am.J.Clin.Nutr. 24, 329-341, 1971

67. Felig, P., Marliss, E., Cahill, G.F. jr.:
Plasma amino acid levels and insulin secretion
in obesity.
N.Engl.J.Med. 281, 811-816, 1969
68. Felig, P., Wahren, J.:
Amino acid metabolism in exercising man.
J.Clin.Invest. 50, 2703-2714, 1971
69. Felig, P.:
Amino acid metabolism in man.
Annu.Rev.Biochem. 44, 933-955, 1975
70. Fell, V., Hoskins, J.A., Pollitt, R.J.:
The labelling of urinary acids after oral doses
of deuterated L-phenylalanine and L-tyrosine in
normal subjects. Quantitative studies with im-
plications for the deuterated phenylalanine load
test in phenylketonuria.
Clin.Chim.Acta 83, 259-269, 1978
71. Finkelstein, M.C., Adelberg, E.A.:
Neutral amino acid transport in an established
mouse lymphocytic cell line.
J.Biol.Chem. 252, 7101-7108, 1977
72. Fisher, D.B., Kaufman, S.:
The stimulation of rat liver phenylalanine hydro-
xylase by phospholipids.
J.Biol.Chem. 247, 2250-2252, 1972
- 72a. Fisher, D.B., Kaufman, S.:
The stimulation of rat liver phenylalanine hydro-
xylase by lysolecithin and α -Chymotrypsin.
J.Biol.Chem. 248, 4345-4353, 1973

60. Embden, G., Baldes, K.:
Über den Abbau des Phenylalanins im tierischen
Organismus.
Biochem.Z. 55, 301-322, 1913
61. Farriaux, J.-P., Delabre, M.:
Le dépistage des hétérozygotes de la phénylcétonurie
typique.
Arch.Fr.Pediatr. 29, 365-372, 1972
62. FAO: Nutritional studies N^o 24:
Amino acid content of foods and biological data
on proteins.
Food and Agriculture Organization of the United
Nations, Rom 1976
63. Fehlmann, M., Le Cam, A., Kitabgi, P., Rey, J.-F.,
Freychet, P.:
Regulation of amino acid transport in the liver.
J.Biol.Chem. 254, 401-407, 1979
64. Feigin, R.D., Klainer, A.S., Beisel, W.R.:
Circadian periodicity of blood amino-acids in adult
men.
Nature (London) 215, 512-514, 1967
65. Feigin, R.D., Klainer, A.S., Beisel, W.R.:
Factors affecting circadian periodicity of blood
amino acids in man.
Metabolism 17, 764-775, 1968
66. Feigin, R.D., Beisel, W.R., Wannemacher, R.W. jr.:
Rhythmicity of plasma amino acids and relation to
dietary intake.
Am.J.Clin.Nutr. 24, 329-341, 1971

67. Felig, P., Marliss, E., Cahill, G.F. jr.:
Plasma amino acid levels and insulin secretion
in obesity.
N.Engl.J.Med. 281, 811-816, 1969
68. Felig, P., Wahren, J.:
Amino acid metabolism in exercising man.
J.Clin.Invest. 50, 2703-2714, 1971
69. Felig, P.:
Amino acid metabolism in man.
Annu.Rev.Biochem. 44, 933-955, 1975
70. Fell, V., Hoskins, J.A., Pollitt, R.J.:
The labelling of urinary acids after oral doses
of deuterated L-phenylalanine and L-tyrosine in
normal subjects. Quantitative studies with im-
plications for the deuterated phenylalanine load
test in phenylketonuria.
Clin.Chim.Acta 83, 259-269, 1978
71. Finkelstein, M.C., Adelberg, E.A.:
Neutral amino acid transport in an established
mouse lymphocytic cell line.
J.Biol.Chem. 252, 7101-7108, 1977
72. Fisher, D.B., Kaufman, S.:
The stimulation of rat liver phenylalanine hydro-
xylase by phospholipids.
J.Biol.Chem. 247, 2250-2252, 1972
- 72a. Fisher, D.B., Kaufman, S.:
The stimulation of rat liver phenylalanine hydro-
xylase by lysolecithin and α -Chymotrypsin.
J.Biol.Chem. 248, 4345-4353, 1973

73. Fölling, A., Closs, K., Gamnes, T.:
Vorläufige Schlußfolgerungen aus Belastungsversuchen mit Phenylalanin an Menschen und Tieren.
Z.Physiol.Chem. 256, 1-14, 1938
74. Ford, R.C., Berman, J.L.:
Intelligence and response to phenylalanine tolerance tests among parent carriers of phenylketonuric and hyperphenylalaninemic children.
Pediatr.Res. 6 (Abstr.) 389, 1974
- 74a. Ford, R.C., Berman, J.L.:
Phenylalanine metabolism and intellectual functioning among carriers of phenylketonuria and hyperphenylalaninaemia.
Lancet I, 767-771, 1977
75. Frame, E.G.:
The levels of individual free amino acids in the plasma of normal man at various intervals after a high-protein meal.
J.Clin.Invest. 37, 1710-1723, 1958
76. Frezza, M.:
The hepatic transport of rifamycin-SV: Its abnormality in Gilbert's syndrome.
In: The Liver. Quantitative Aspects of Structure and Function.
Abstracts 3rd Internat.Gstaad Symp. 1978
77. Friedman, P.A., Kaufman, S., Kang, E.S.:
Nature of the molekular defect in phenylketonuria and hyperphenylalaninaemia.
Nature 240, 157-159, 1972

78. Friedman, P.A., Fisher, D.B., Kang, E.S.,
Kaufman, S.:
Detection of hepatic phenylalanine 4-hydroxylase
in classical phenylketonuria.
Proc.Natl.Acad.Sci. USA 70, 552-556, 1973
79. Friedman, P.A., Kaufman, S.:
Some characteristics of partially purified human
liver phenylalanine hydroxylase.
Biochim.Biophys.Acta 293, 56-61, 1973
80. Gan, J.C., Jeffay, H.:
Origins and metabolism of the intracellular amino
acid pools in rat liver and muscle.
Biochim.Biophys.Acta 148, 448-459, 1967
81. Ganapathy, S.N., Nasset, E.S.:
Free amino acids in dog blood and gut contents
after feeding meat.
J.Nutr. 78, 241-244, 1962
82. Garrett, E.R.:
In: Workshop of Pharmacokinetics. Bad Lauterberg
1975
83. Gibaldi, M., Nagashima, R., Levy, G.:
Relationship between drug concentration in plasma
or serum and amount of drug in the body.
J.Pharm.Sci. 58, 193-197, 1969
84. Gibaldi, M.:
Effect of mode of administration on drug distri-
bution in a two-compartment open system.
J.Pharm.Sci. 58, 327-331, 1969
85. Gladtko, E., v.Hattingberg, H.M.:
Pharmakokinetik. Eine Einführung. 2. Aufl.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1977

86. Goldberg, A., Guggenheim, K.:
The digestive release of amino acids and their
concentrations in the portal plasma of rats
after protein feeding.
Biochem.J. 83, 129-134, 1962
87. Grau, C.R., Steele, R.:
Phenylalanine and tyrosine utilization in normal
and phenylalanine-deficient young mice.
J.Nutr. 53, 59-71, 1954
88. Green, H., Anker, H.S.:
Kinetics of amino acid incorporation into serum
proteins.
J.Gen.Physiol. 38, 283-293, 1955
89. Groth, U., Rosenberg, L.E.:
Transport of dibasic amino acids, cystine, and
tryptophan by cultured human fibroblasts:
Absence of a defect in cystinuria and Hartnup
disease.
J.Clin.Invest. 51, 2130-2142, 1972
90. Grümer, H.D., Koblet, H., Woodard, C.:
Phenylalanine metabolism in the phenylpyruvic
condition. I. Distribution, pool size, and turn-
over rate in human phenylketonuria.
J.Clin.Invest. 40, 1758-1765, 1961
- 90a. Grümer, H.D., Koblet, H., Woodard, C.:
Phenylalanine metabolism in the phenylpyruvic
condition. II. An attempt to calculate the daily
incorporation of phenylalanine into proteins.
J.Clin.Invest. 41, 61-66, 1962

91. Guidotti, G.G., Franchi-Gazzola, R.,
Gazzola, G.C., Ronchi, P.:
Regulation of amino acid transport in chick
embryo heart cells. IV. Site and mechanism of
insulin action.
Biochim.Biophys.Acta 356, 219-230, 1974
92. Guidotti, G.G., Gazzola, G.C., Borghetti, A.F.,
Franchi-Gazzola, R.:
Adaptative regulation of amino acid transport
across the cell membrane in avian and mammalian
tissues.
Biochim.Biophys.Acta 406, 264-279, 1975
93. Guidotti, G.G., Borghetti, A.F., Gazzola, G.C.:
The regulation of amino acid transport in animal
cells.
Biochim.Biophys.Acta 515, 329-366, 1978
94. Gupta, J.D., Dakroury, A.M., Harper, A.E.:
Observations on protein digestion in vivo.
J.Nutr. 64, 447-456, 1958
95. Güttler, F., Olesen, E.S., Wamberg, E.:
Diurnal variations of serum phenylalanine in
phenylketonuric children on low-phenylalanine diet.
Am.J.Clin.Nutr. 22, 1568-1570, 1969
96. Güttler, F., Hansen, G.:
Serum tyrosine within the first hour after an
oral load of phenylalanine.
Scand.J.Clin.Lab.Invest. 37, 717-722, 1977
97. Güttler, F., Wamberg, E.:
On indications for treatment of the hyperphenyl-
alaninemic neonate.
Acta Paediatr.Scand. 66, 339-344, 1977

98. Haley, C.J., Harper, A.E.:
The importance of transamination and decarboxylation in phenylalanine metabolism in vivo in the rat.
Arch.Biochem.Biophys. 189, 524-530, 1978
99. v. Hattingberg, H.M., Brockmeier, D., Kreuter, G.:
A rotating iterative procedure (RIP) for estimating hybrid constants in multicompartiment analysis on desk computers.
Eur.J.Pharmacol. 11, 381-388, 1977
100. Heaton, J.H., Gelehrter, T.:
Derepression of amino acid transport by amino acid starvation in rat hepatoma cells.
J.Biol.Chem. 252, 2900-2907, 1977
101. Heimann, G., Roth, B.:
Untersuchungen zur Reifung der Transportmechanismen der Leber für anionische Farbstoffe mit Hilfe der Indocyanin-Grün-Kinetik.
Klin.Wochenschr. 53, 935 (Abstr.), 1975
102. Heimann, G., Roth, B., Gladtko, E.:
Indocyanin-Grün-Kinetik bei Neugeborenen mit transitorischer Hyperbilirubinämie.
Klin.Wochenschr. 55, 451-456, 1977
103. Heimann, G.:
Altersabhängigkeit der enteralen Absorption im Kindesalter.
Habilitationsschrift, Köln 1978
104. Heinz, E.:
Kinetic studies of amino acid transport into cells.
Fed.Proc. 13, 227-228, 1954

105. Henderson, Y.:
The absorption and elimination of volatile
substances through the lungs.
Brit.Med.J. I, 41-46, 1926
106. Henderson, Y., Haggard, W.R.:
The circulation and its measurement.
Am.J.Physiol. 73, 193-253, 1925
107. Henriques, O.B., Henriques, S.B., Neuberger, A.:
Quantitative aspects of glycine metabolism in
the rabbit.
Biochem.J. 60, 409-424, 1955
108. Henshaw, E.C., Hirsch, C.A., Morton, B.E., Hiatt,
H.H.:
Control of protein synthesis in mammalian tissues
through changes in ribosome activity.
J.Biol.Chem. 246, 436-446, 1971
109. Hill, A.V.:
XLVII. The combinations of haemoglobin with
oxygen and with carbon monoxide.I.
Biochem.J. 7, 471-480, 1913
110. Hjalmarsson, O., Jagenburg, R., Rödger, S.:
Mild and severe PKU. Comparative studies in two
infants.
Acta Paediatr.Scand. 60, 11-16, 1971
111. Hsia, D.Y.-Y., Driscoll, K.W., Troll, W., Knox, W.E.:
Detection by phenylalanine tolerance tests of
heterozygous carriers of phenylketonuria.
Nature 178, 1239-1240, 1956

112. Huang, C.Y., Max, E.E., Kaufman, S.:
Purification and characterization of phenyl-
alanine hydroxylase-stimulating protein from
rat liver.
J.Biol.Chem. 248, 4235-4241, 1973
113. Hunton, D.B., Bollmann, J.L., Hoffmann, H.N.:
The plasma removal of indocyanine green and sul-
fobromophthaleine. Effect of dosage and blocking
agents.
J.Clin.Invest. 40, 1648-1655, 1961
114. Inui, Y., Christensen, H.N.:
The Na^+ -sensitive transport of neutral amino acids
in the Ehrlich cell.
J.Gen.Physiol. 50, 203-224, 1966
115. Job, V., McMath, M., Coon, W.W.:
Intra-individual and inter-individual variations
in plasma free amino acids in normal adults.
J.Surg.Res. 3, 85-89, 1963
116. Irving, C.S., Nissim, J., Lapidot, A.:
Whole body amino acid pools and turnover rates
determined by a stable isotope gas chromatogra-
phic mass spectrometric methodology. In: Inborn
Errors of Metabolism in Man, Part I; Eds.
O. Sperling, A. de Vries, Monogr. hum. Genet. 9,
50-57, Karger, Basel 1978
117. Jackson, S.H., Hanley, W.B., Gero, R.,
Gosse, G.D.:
Detection of phenylketonuric heterozygotes.
Clin.Chem. 17, 538-543, 1971

118. Jagenburg, R., Rödger, S.:
Detection of heterozygotes for phenylketonuria
by constant intravenous infusion of L-phenyl-
alanine.
Clin.Chem. 23, 1661-1665, 1977
119. Jagenburg, R., Regårdh, C.-G., Rödger, S.:
Detection of heterozygotes for phenylketonuria.
Total body phenylalanine clearance and concen-
trations of phenylalanine and tyrosine in the
plasma of fasting subjects compared.
Clin.Chem. 23, 1654-1660, 1977a
120. Jagenburg, R., Olsson, R., Regårdh, C.-G.,
Rödger, S.:
Kinetics of intravenous administered L-phenyl-
alanine in patients with cirrhosis of the liver.
Clin.Chim.Acta 78, 453-463, 1977b
121. James, W.P.T., Garlick, P.J., Sender, P.M.,
Waterlow, J.C.:
Studies of amino acid and protein metabolism in
normal man with L-(U-¹⁴C)-tyrosine.
Clin.Sci.Mol.Med. 50, 525-532, 1976
122. Jedlicki, E., Kaufman, S., Milstien, S.:
Partial purification and characterization of
rat liver phenylalanine hydroxylase phosphatase.
J.Biol.Chem. 252, 7711-7714, 1977
123. Jervis, G.A., Block, R.J., Bolling, D., Kanze, E.:
Chemical and metabolic studies on phenylalanine.
II. The phenylalanine content of the blood and
spinal fluid in phenylpyruvic oligophrenia.
J.Biol.Chem. 134, 105-113, 1940

124. Jervis, G.A.:
Detection of heterozygotes for phenylketonuria.
Clin.Chim.Acta 5, 471-476, 1960
125. Justice, P., O'Flynn, M.E., Hsia, D. Y.-Y.:
Phenylalanine-hydroxylase activity in hyper-
phenylalaninaemia.
Lancet I, 928-929, 1967
126. Kotake, Y., Masai, Y., Mori, Y.:
Über das Verhalten des Phenylalanins im tieri-
schen Organismus.
Z.Physiol.Chem. 122, 195-200, 1922
127. Krüger-Thiemer, E.:
Theorie der Wirkung bakteriostatischer Chemo-
therapeutica. Quantitative Beziehungen zwischen
Dosierung, in vitro-Wirkung, Pharmakokinetik und
Distribution.
Jber.Tuberk.-Forsch.-Inst. Borstel 5, 315-400,
1961
128. Kang, E.S., Kaufman, S., Gerald, P.S.:
Clinical and biochemical observations of patients
with atypical phenylketonuria.
Pediatrics 45, 83-92, 1970
129. Kaufman, S.:
The enzymatic conversion of phenylalanin to
tyrosine.
J.Biol.Chem. 226, 511-524, 1957

130. Kaufman, S.:
The structure of phenylalanine hydroxylation
cofactor.
Proc.Natl.Acad.Sci. USA 50, 1085-1093, 1963
131. Kaufman, S.:
Studies on the structure of the primary oxidation
product formed from tetrahydropteridines during
phenylalanine hydroxylation.
J.Biol.Chem. 239, 332-338, 1964
132. Kaufman, S.:
Metabolism of the phenylalanine hydroxylation
cofactor.
J.Biol.Chem. 242, 3934-3943, 1967
133. Kaufman, S.:
A protein that stimulates rat liver phenylalanine
hydroxylase.
J.Biol.Chem. 245, 4751-4759, 1970
134. Kaufman, S.:
The phenylalanine hydroxylating system from
mammalian liver.
Adv.Enzymol. 35, 245-319, 1971
135. Kaufman, S., Max, E.E.:
Studies on the phenylalanine hydroxylating system
in human liver and their relationship to pathoge-
nesis of PKU and hyperphenylalaninemia.
In: Phenylketonuria and some other inborn errors
of amino acid metabolism. Biochemistry-Genetics-
Diagnosis-Therapy. Hrsg. H. Bickel, R.P. Hudson,
L.J. Woolf, pp. 13-19, Thieme, Stuttgart 1971

136. Kaufman, S., Max, E.E.:
Phenylalanine hydroxylase activity in liver
biopsies from hyperphenylalaninemia hetero-
zygotes: Deviation from proportionality with
gene dosage.
Pediatr.Res. 9, 632-634, 1975
137. Kaufman, S.:
The phenylalanine hydroxylating system in phe-
nylketonuria and its variants.
Biochem.Med. 15, 42-54, 1976
138. Kaufman, S.:
The enzymes of the hepatic phenylalanine hydro-
xylating system.
J.Inher.Metab.Dis. 1, 63-65, 1978
139. McKean, C.M., Peterson, N.A.:
Glutamine in the phenylketonuric central nervous
system.
N.Engl.J.Med. 283, 1364-1367, 1970
140. McKean, C.M.:
The effects of high phenylalanine concentrations
on serotonin and catecholamine metabolism in the
human brain.
Brain.Res. 47, 469-476, 1972
141. McKee, E.E., Cheung, J.Y., Rannels, D.E.,
Morgan, H.E.:
Measurement of the rate of protein synthesis and
compartmentation of heart phenylalanine.
J.Biol.Chem. 253, 1030-1040, 1978

142. Kelley, D.S., Potter, V.R.:
Regulation of amino acid transport systems by amino acid depletion and supplementation in monolayer cultures of rat hepatocytes.
J.Biol.Chem. 253, 9009-9017, 1978
143. Kelly, J.C., Otto, E.F., Hillman, R.E.:
Glycine transport by human diploid fibroblasts-
absence of a defect in cells from patients with
nonketotic hyperglycinemia.
Pediatr.Res. 13, 127-130, 1979
144. Khairallah, E.A., Mortimore, G.E.:
Assessment of protein turnover in perfused rat
liver. Evidence for amino acid compartmentation
from differential labeling of free and tRNA-
bound valine.
J.Biol.Chem. 251, 1375-1384, 1976
145. Knox, W.E., Messinger, E.C.:
The detection in the heterozygote of the meta-
bolic effect of the recessive gene for phenyl-
ketonuria.
Am.J.Hum.Genet. 10, 53-60, 1958
146. Kolb, E.:
Körper- und Zellbestandteile. I. Allgemeines und
Hauptorgane. In: Biochemisches Taschenbuch, Hrsg.
H.M. Rauen, p. 330-400. 2. Auflage; Springer,
Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York 1964

147. Kübler, W.:
Pharmakokinetik der enteralen Resorption.
In: Pharmakokinetik. Hrsg. E. Gladtko, H.M.
v. Hattingberg. Zweite Auflage, pp. 77-101,
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1977
148. Kuemmerle, H.P., Garrett, E.R., Spitzzy, K.H.:
Klinische Pharmakologie.
Urban + Schwarzenberg, München-Baltimore 1975
149. Lacy, W.W.:
Uptake of individual amino acids by perfused
rat liver: effect of acute uremia.
Am.J.Physiol. 219, 649-653, 1970
150. DeLand, E.C., Bradham, G.B.:
Fluid balance and electrolyte distribution in
the human body.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 128, 795-809, 1966
151. Lineweaver, H., Burk, D.:
The determination of enzyme dissociation constant.
J.Am.Chem.Soc. 56, 658-666, 1934
152. Linneweh, F., Ehrlich, M.:
Zur Pathogenese des Schwachsinnns bei Phenyl-
ketonurie.
Klin.Wochenschr. 40, 225-226, 1962
153. Lippman, R.W., Shaw, K.N.F., Perry, T.L.L.,
Gutenstein, M., v.Redlich, D., Moore, P.,
Walker, D.:
Identification of phenylketonuria heterozygotes by
an intravenous phenylalanine tolerance test.
Clin.Res. 8, 142, 1960

154. Loftfield, R.B., Harris, A.:
Participation of free amino acids in protein
synthesis.
J.Biol.Chem. 219, 151-159, 1956
155. Lücke, H., Haase, W., Murer, H.:
Amino acid transport in brush-border-membrane
vesicles isolated from human small intestine.
Biochem.J. 168, 529-532, 1977
156. Lutz, P.:
Clinical biochemistry and pathogenesis.
In: Phenylketonuria and some other inborn errors
of amino acid metabolism. Biochemistry, Genetics,
Diagnosis, Therapy. Hrsg. H. Bickel, F.P. Hudson,
L.I. Woolf.
pp. 56-64, Thieme, Stuttgart 1971
157. Mallette, L.E., Exton, J.H., Park, C.R.:
Effects of glucagon on amino acid transport and
utilization in the perfused rat liver.
J.Biol.Chem. 244, 5724-5728, 1969
158. Mathews, C.M.E.:
The theory of tracer experiments with ^{131}J -
labelled plasma proteins.
Phys.Med.Biol. 2, 36-53, 1957
159. Matthews, D.M.:
Intestinal absorption of peptides.
Physiol.Rev. 55, 537-608, 1975

160. Mayersohn, M., Gibaldi, M.:
Mathematical methods in pharmacokinetics. II.
Solution of the two-compartment open model.
Am.J.Pharm.Educ. 35, 19-28, 1971
161. Mechanic, G., Efron, M.L., Shih, V.E.:
A rapid quantitative estimation of tyrosine and
phenylalanine by ion-exchange chromatography.
Anal.Biochem. 16, 420-426, 1966
162. Meister, A.:
The role of amino acids in nutrition.
In: Biochemistry of the amino acids.
Hrsg. A. Meister; 2. Auflg., pp. 201-230,
Academic Press, New York-London 1965 a
163. Meister, A.:
General biochemical and physiological considera-
tions. In: Biochemistry of the amino acids.
Hrsg. A. Meister, 2. Auflg., pp. 269-437, Academic
Press, New York-London, 1965 b
164. Menkes, J.H., Avery, M.E.:
The metabolism of phenylalanine and tyrosine in
the premature infant.
Bull.Johns Hopkins Hosp. 113, 301-319, 1963
165. Michaelis, L., Menten, M.L.:
Die Kinetik der Invertinwirkung.
Biochem.Z. 49, 333-369, 1913

166. Milstien, S., Kaufman, S.:
Studies on the phenylalanine hydroxylase system
in liver slices.
J.Biol.Chem. 250, 4777-4781, 1975 a
167. Milstien, S., Kaufman, S.:
Studies on the phenylalanine hydroxylase system
in vivo. An in vivo assay based on the liberation
of deuterium or tritium into the body water from
ring-labeled L-phenylalanine.
J.Biol.Chem. 250, 4782-4785, 1975 b
168. Mortimore, G.E., Woodside, K.H., Henry, J.E.:
Compartmentation of free valine and its relation
to protein turnover in perfused rat liver.
J.Biol.Chem. 247, 2776-2784, 1972
169. Morgan, E.H., Peters, T. jr.:
The biosynthesis of rat serum albumin. V. Effect
of protein depletion and refeeding on albumin and
transferrin synthesis.
J.Biol.Chem. 246, 3500-3507, 1971
170. Moss, A.R., Schoenheimer, R.:
The conversion of phenylalanine to tyrosine in
normal rats.
J.Biol.Chem. 135, 415-429, 1940
171. Munro, H.N.:
Free amino acid pools and their role in regulation.
In: Mammalian protein metabolism, ed. H.N.Munro,
vol. IV, pp.297-387, Academic Press, New York 1970

172. Murthy, L.J., Berry, H.K.:
Phenylalanine hydroxylase activity in liver
from humans and subhuman primates: Its probable
absence in kidney.
Biochem. Med. 12, 392-395, 1975
173. Nagashima, R., Levy, G., O'Reilly, R.A.
Comperative pharmacokinetics of coumarin anti-
coagulants IV.
Application of a three compartmental model to
the analysis of the dose-dependent kinetics of
bishydroxycoumarin elimination.
J.Pharm.Sci. 57, 1888-1895, 1968
174. Nelson, E.:
Kinetics of the acetylation and excretion of
sulfonamides and a comparison of two models.
Antibiot. Chemother. 12, 29-40, 1964
175. Nelson, E.:
Phenylalanine tolerance test for heterozygous
carriers of phenylketonuria.
Nature 205, 1024-1025, 1965
176. Newey, H., Smyth, D.H.:
Intracellular hydrolysis of dipeptides during
intestinal absorption.
J.Physiol. 152, 367-380, 1960
177. Newey, H., Smyth, D.H.:
Cellular mechanisms in intestinal transfer of
amino acids.
J.Physiol. 164, 527-551, 1962

178. Nyhan, W.L., Childs, B.:
Hyperglycinemia. V. The miscible pool and
turnover rate of glycine and the formation
of serine.
J.Clin.Invest. 43, 2404-2409, 1964
179. Okita, G.T., Talso, P.J., Curry, J.H., Smith,
F.D., Geiling, E.M.K.:
Blood level studies of C¹⁴-digitoxin in human
subjects with cardiac failure.
J.Pharmacol.Exp.Ther. 113, 376-382, 1955
180. Onen, K.H., Wade, O.L., Blainey, J.D.:
Amino-acids in hepatic venous and arterial blood
investigated by paper chromatography.
Lancet 271, 1075-1076, 1956
181. Oxender, D.L., Christensen, H.N.:
Distinct mediating systems for the transport
of neutral amino acids by the Ehrlich cell.
J.Biol.Chem. 238, 3686-3699, 1963
182. Oxender, D.L., Lee, M., Moore, P.A., Cecchini, G.:
Neutral amino acid transport systems of tissue
culture cells.
J.Biol.Chem. 252, 2675-2679, 1977
183. Pappenheimer, J.R., Renkin, E.M., Borrero, L.M.:
Filtration, diffusion and molecular sieving
through peripheral capillary membranes. A contri-
bution to the pore theory of capillary permeability.
Am.J.Physiol. 167, 13-46, 1951

184. Pardridge, W.M., Jefferson, L.S.:
Liver uptake of amino acids and carbohydrates
during a single circulatory passage.
Am.J.Physiol. 228, 1155-1161, 1975
185. Partington, M.W., Lewis, E.J.M.:
Variations with age in plasma phenylalanine
and tyrosine levels in phenylketonuria.
J.Pediatr. 62, 348-357, 1963
186. Partington, M.W., Vickery, S.K.:
Phenylketonemia in phenylketonuria.
Neuropaediatric 2, 125-137, 1974
187. Paumgartner, G., Probst, P., Kraines, R.,
Leevy, C.M.:
Kinetics of indocyanine green removal from blood.
Ann.N.Y.Acad.Sci. 170, 134-147, 1970
188. Paumgartner, G.:
The handling of indocyanine green by the liver.
Schweiz.Med.Wochenschr. 105 (Supl.), 2-30, 1975
189. Peraino, C., Harper, A.E.:
Observations on protein digestion in vivo.
V. Free amino acids in blood plasma of rats
force-fed zein, casein, or their respective
hydrolyzates.
J.Nutr. 80, 270-278, 1963
190. Perry, T.L., Jones, R.T.:
The amino acid content of human cerebrospinal
fluid in normal individuals and in mental de-
fectives.
J.Clin.Invest. 40, 1363-1372, 1961

191. Perry, T.L., Tischler, B., Hansen, S.,
MacDoughall, L.:
A simple test for heterozygosity for phenyl-
ketonuria.
Clin.Chim.Acta 15, 47-55, 1967
192. Perry, T.L., Hansen, S.:
Technical pitfalls leading to errors in the
quantitation of plasma amino acids.
Clin.Chim.Acta 25, 53-58, 1969
193. Pollitt, R.J.:
Loads versus tracers for assessing phenylalanine
hydroxylase activity using plasma phenylalanine
decay curves.
Clin.Chim.Acta 83, 270-272, 1978
194. Pozefsky, T., Felig, P., Tobin, J.D., Soeldner,
J.S., Cahill, G.F.:
Amino acid balance across tissues of the forearm
in postabsorptive man. Effects of insulin at two
dose levels.
J.Clin.Invest. 48, 2273-2282, 1969 a
195. Pozefsky, T., Felig, P., Soeldner, J.S.
Cahill, G.F. jr.:
Balance of individual amino acids across forearm
muscle.
Clin.Res. 17, (Abstr.), 393, 1969 b
196. Rampini, S., Anders, P.W., Curtius, H.C.,
Marthaler, T.:
Detection of heterozygotes for phenylketonuria
by column chromatography and discriminatory ana-
lysis.
Pediatr. Res. 3, 287-297, 1969

197. Rampini, S., Völlmin, J.A., Bosshard, H.R.,
Müller, M., Curtius, H.C.:
Aromatic acids in urine of healthy infants,
persistent hyperphenylalaninemia and phenyl-
ketonuria, before and after phenylalanine load.
Pediatr.Res. 8, 704-709, 1974
198. Read, N.W., Barber, D.C., Levin, R.J.,
Holdsworth, C.D.:
Unstirred layer and kinetics of electrogenic
glucose absorption in the human jejunum in situ.
Gut 18, 865-876, 1977
199. Reilly, P.E.B., Green, J.R.:
Multi-exponential analysis of plasma free amino
acid kinetics in the rat.
Biochim. Biophys. Acta 381, 424-430, 1975
200. Renwick, J.H., Lawler, S.D., Cowie, V.A.:
Phenylketonuria: A linkage study using phenyl-
alanine tolerance tests.
Am.J.Hum.Genet. 12, 287-322, 1960
201. Rey, F., Blandin-Savoja, F., Rey, J.:
Kinetics of phenylalanine disappearance after
intravenous load in phenylketonuria and its
genetic variants.
Pediatr.Res. 13, 21-25, 1979
202. Riegelman, S., Loo, J.C.K., Rowland, M.:
Shortcomings in pharmacokinetic analysis by
conceiving the body to exhibit properties of
a single compartment.
J.Pharm.Sci. 57, 117-123, 1968 a

203. Riegelman, S., Loo, J., Rowland, M.:
Concept of a volume of distribution and
possible errors in evaluation of this parameter.
J.Pharm.Sci. 57, 128-133, 1968 b
204. Rietbrock, N., Abshagen, U.:
Stoffwechsel und Pharmakokinetik der Lanata-
glykoside beim Menschen.
Dtsch.Med.Wochenschr. 98, 117-122, 1973
205. Ritschel, W.A.:
Handbook of basic pharmacokinetics,
Drug Intelligence Publications.
Hamilton, Ill. (USA), 1975
206. Rose, W.C.:
The nutritive significance of the amino acids
and certain related compounds.
Science 86, 298-300, 1937
207. Rose, W.C.:
Amino acid requirements of man.
Fed.Proc. 8, 546-552, 1949
208. Rose, W.C., Leach, B.E., Coon, M.J., Lambert, G.F.:
The amino acid requirement of man.
IX. The phenylalanine requirement.
J.Biol.Chem. 213, 913-922, 1955
209. Rose, W.C., Wixom, R.L.:
The amino acid requirements of man.
XIV. The sparing effect of tyrosine on the phenyl-
alanine requirement.
J.Biol.Chem. 217, 95-101, 1955

210. Rose, R.C., Schultz, S.G.:
Alanine and glucose effects on the intracellular
electrical potential of rabbit ileum.
Biochim.Biophys.Acta 211, 376-378, 1970
211. Rosenberg, L.E., Downing, S.:
Transport of neutral and dibasic amino acids
by human leukocytes: Absence of defect in
cystinuria.
J.Clin.Invest. 44, 1382-1393, 1965
212. Rosenblatt, D., Sriver, C.R.:
Heterogeneity in genetic control of phenylalanine
metabolism in man.
Nature 218, 677-678, 1968
213. Schedl, H.P., Pierce, C.P., Rider, A., Clifton,
J.A., Nokes, G.:
Absorption of L-methionine from the human small
intestine.
J.Clin.Invest. 47, 417-425, 1968
214. Schneider, A.J.:
The kinetics of phenylalanine disposal in
PKU and PKU-variants.
Pediater.Res. 7, 394, 1973
215. Schoengold, D.M., DeFiore, R.H., Parlett, R.C.:
Free amino acids in plasma throughout pregnancy.
Amer.J.Obstet.Gynecol. 131, 490-499, 1978
216. Schwab, M., Dissmann, T., Schubert, W.:
Der Einfluß des Alters auf die Flüssigkeitsräume
des Körpers.
Klin.Wochenschr. 41, 1173-1181, 1963

217. Sriver, C.R.:
The human biochemical genetics of amino acid transport.
Pediatrics 44, 348-357, 1969
218. Sriver, C.R., Clow, C.L., Lamm, P.:
Plasma amino acids: screening, quantitation, and interpretation.
Am.J.Clin.Nutr. 24, 876-890, 1971
219. Sriver, C.R., Rosenberg, L.E.:
Amino acid metabolism and its disorders.
W.B. Saunders, Philadelphia, London, Toronto
1973
220. Sepúlveda, F.V., Smith, M.W.:
Discrimination between different entry mechanisms for neutral amino acids in rabbit ileal mucosa.
J.Physiol. 282, 73-90, 1978
221. van Slyke, D.D., Meyer, G.M.:
The fate of protein digestion products in the body. III. The absorption of amino-acids from the blood by the tissues.
J.Biol.Chem. 16, 197-212, 1913
222. Snyderman, S.E., Holt, L.E., Norton, P.M., Roitman, E., Phansalkar, S.V.:
The plasma aminogram. I. Influence of the level of protein intake and a comparison of whole protein and amino acid diets.
Pediatr.Res. 2, 131-144, 1968

223. Spackman, D.H., Stein, W.H., Moore, S.:
Automatic recording apparatus for use in the
chromatography of amino acids.
Anal.Chem. 30, 1190-1206, 1958
224. Sprinson, D.B., Rittenberg, D.:
The rate of interaction of the amino acids of
the diet with the tissue proteins.
J.Biol.Chem. 180, 715-726, 1949
225. Stakeberg, H., Gustavson, A., Scherstén, T.:
Incorporation rate of leucine into proteins in
human liver slices.
Eur.J.Clin.Invest. 4, 393-398, 1974
226. Stegink, L.D., Baker, G.L.:
Serum amino acid levels of northern alaskan
eskimo infants and children.
Am.J.Clin.Nutr. 23, 1642-1648, 1970
227. Stein, W.H., Moore, S.:
The free amino acids of human plasma.
J.Biol.Chem. 211, 915-926, 1954
228. Swendseid, M.E., Yamada, C., Vinyard, E.,
Figuerola, W.G., Drenick, E.J.:
Plasma amino acid levels in subjects fed isonitro-
genous diets containing different proportions of
fat and carbohydrate.
Am.J.Clin.Nutr. 20, 52-55, 1967
229. Sydnes, S., Følling, A.:
On detection of heterozygotes for phenylpyruvic
oligophrenia.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 14, 44-46, 1962

230. Tagari, H., Bergman, E.N.:
Intestinal disappearance and portal blood
appearance of amino acids in sheep.
J.Nutr. 108, 790-803, 1978
231. Teorell, T.:
Kinetics of distribution of substances
administered to the body.
II. The intravascular modes of administration.
Arch.Int.Pharmacodyn. 57, 226-240, 1937
232. Tourian, A.Y., Sidbury, J.B.:
Phenylketonuria. In: The metabolic basis of
inherited disease. Hrsg. J.B. Stanbury, J.B.
Wyngaarden, D.S. Fredrickson; 4. Aufl., pp.
240-255, McGraw-Hill 1978
233. Trefz, F.K., Byrd, D.J., Blaskovics, M.E.,
Kochen, W., Lutz, P.:
Determination of deuterium-labeled phenylalanine
and tyrosine in human plasma with high pressure
liquid chromatography and mass spectrometry.
Clin.Chim.Acta 73, 431-438, 1976
234. Trefz, F.K., Bartholomé, K., Bickel, H., Lutz, P.,
Schmidt, H.:
In vivo determination of phenylalanine hydroxy-
lase activity using heptadeutero-phenylalanine
and comparison to the in vitro assay values.
Monogr.Hum.Genet. 9, 108-113, Karger, Basel 1978
235. Valdivieso, F., Ugarte, M., Maties, M.,
Gimenez, C., Mayor, F.:
Free amino acids in the tissues of rats with
experimentally induced phenylketonuria.
J.Ment.Defic.Res. 21, 95-102, 1977

236. Wadman, S.K., van der Heiden, C., Ketting, D.,
van Sprang, F.J.:
Abnormal tyrosine and phenylalanine metabolism
in patients with tyrosyluria and phenylketonuria;
gas-liquid chromatographic analysis of urinary
metabolites.
Clin.Chim. Acta 34, 277-287, 1971
237. Wagner, J.G., Northam, J.I.:
Estimation of volume of distribution and half-
life of a compound after rapid intravenous
injection.
J.Pharm.Sci. 56, 529-531, 1967
238. Wagner, J.G., Novak, E., Leslie, L.G., Metzler,
C.M.:
Absorption, distribution, and elimination of
spectinomycin dihydrochloride in man.
Int.J.Clin.Pharmacol. 1, 261-285, 1968
239. Wagner, J.G., Pernarowski, M.:
Biopharmaceutics and relevant Pharmacokinetics.
Drug Intelligence Publications, Hamilton, Ill.
(USA), 1971
240. Wagner, W.-H.:
Praktische Anwendung pharmakokinetischer Modelle.
In: Pharmakokinetik. Hrsg. E. Glatcke, H.M. v.
Hattingberg. 2. Auflage, pp. 130-153, Springer
Berlin-Heidelberg-New York 1977
241. Waite, M., van Deenen, L.L.M.:
Hydrolysis of phospholipids and glycerides by
rat liver preparations.
Biochim.Biophys.Acta 137, 498-517, 1967

242. Wang, H.L., Morton, N.E., Waisman, H.A.:
Increased reliability for the determination
of the carrier state in phenylketonuria.
Am.J.Hum.Genet. 13, 255-261, 1961
243. Wapnier, R.A., Hawkins, R.L., Lifshitz, F.:
Hyperaminoacidemia effects on intestinal trans-
port of related amino acids.
Am.J.Physiol. 223, 788-793, 1972
244. Wapnier, R.A., Lifshitz, F.:
Intestinal transport of aromatic amino acids,
glucose and electrolytes in a patient with phe-
nylketonuria.
Clin.Chim.Acta 54, 349-356, 1974
245. Waterlow, J.C.:
Lysine turnover in man measured by intravenous
infusion of L- [U-¹⁴C]-lysine.
Clin.Sci. 33, 507-515, 1967
246. Waterlow, J.C., Stephen, J.M.L.:
The measurement of total lysine turnover in the
rat by intravenous infusion of L- [U-¹⁴C]-lysine.
Clin.Sci. 33, 489-506, 1967
247. Watts, R.W.E., Crawhall, J.C.:
The first glycine metabolic pool in man.
Biochem.J. 73, 277-286, 1959
248. Weller, L.A., Margen, S., Calloway, D.H.:
Variation in fasting and postprandial amino acids
of men fed adequate or protein-free diets.
Am.J.Clin.Nutr. 22, 1577-1583, 1969

249. Westwood, A., Raine, D.N.:
Heterozygote detection in phenylketonuria.
Measurement of discriminatory ability and interpretation of the phenylalanine loading test by determination of the heterozygote likelihood ratio.
J.Med.Genet. 12, 327-333, 1975
250. Widmark, E., Tandberg, J.:
Über die Bedingungen für die Akkumulation in-differenten Narkotika. Theoretische Berechnungen.
Biochem.Z. 147, 358-369, 1924
251. Wilder, J.:
Das "Ausgangswert-Gesetz" — ein unbeachtetes biologisches Gesetz; seine Bedeutung für Forschung und Praxis.
Klin.Wochenschr. 10, 1889-1893, 1931
252. Winkler, K.:
Protein synthesis in human leukocytes, III.
Kinetics of the flow of amino acids from the extracellular space and the intracellular pools resulting in protein synthesis.
Hoppe Seyler's Z.Physiol.Chem. 353, 782-786, 1972
253. Winkler, K., Heller-Schöch, G., Neth, R.:
Protein synthesis in human leukocytes, IV.
Mutual inhibition of amino acid incorporation by amino acids in cell suspensions and cell-free systems.
Hoppe Seyler's Z.Physiol.Chem. 353, 787-792, 1972
254. Wolff, J.E., Bergman, E.N.:
Metabolism and interconversions of five plasma amino acids by tissues of the sheep.
Am.J.Physiol. 223, 447-454, 1972

255. Wolff, J.E., Bergman, E.M., Williams, H.H.:
Net metabolism of plasma amino acids by liver
and portal-drained viscera of fed sheep.
Am.J.Physiol. 223, 438-446, 1972
256. Womack, M., Rose, W.C.:
Feeding experiments with mixtures of highly
purified amino acids.
J.Biol.Chem. 107, 449-458, 1934
257. Woodside, K.H., Mortimore, G.E.:
Suppression of protein turnover by amino acids
in the perfused rat liver.
J.Biol.Chem. 247, 6474-6481, 1972
258. Woolf, L.I., Cranston, W.I., Goodwin, B.L.L
Genetics of phenylketonuria.
Nature 213, 882-885, 1967
259. Woolf, L.I., Goodwin, B.L., Cranston, W.I.,
Wade, D.N., Woolf, F., Hudson, F.P., McBean, M.S.:
A third allele at the phenylalanine hydroxylase
locus in mild phenylketonuria.
Lancet I, 114-117, 1968
260. Wurtman, R.J., Rose, C.M., Chou, C., Larin, F.F.:
Daily rhythms in the concentrations of various
amino acids in human plasma.
N.Engl.J.Med. 279, 171-175, 1968
261. Yamamoto, H., Aikawa, T., Matsutaka, H.,
Okuda, T., Ishikawa, E.:
Interorganal relationships of amino acid me-
tabolism in fed rats.
Am.J.Physiol. 226, 1428-1432, 1974

262. Yearick, E.S., Nadeau, R.G.:
Serum amino acid response to isocaloric test meals.
Am.J.Clin.Nutr. 20, 338-344, 1967
263. Youdim, M.B.H., Mitchell, B., Woods, H.F.:
The effect of increasing phenylalanine concentration of on phenylalanine metabolism in perfused rat liver.
Biochem.Soc.Trans. 3, 683-684, 1975
264. Zachmann, M., Cleveland, W.W., Sandberg, D.H., Nyhan, W.L.:
Concentrations of amino acids in plasma and muscle. Relationship to androgen metabolism during growth and development in the male.
Am.J.Dis.Child. 112, 283-289, 1966
265. Zagalak, M.-J., Curtius, H.-C., Leimbacher, W., Redweik, U.:
Quantitation of deuterated and non - deuterated phenylalanine and tyrosine in human plasma using the selective ion monitoring method with combined gas chromatography - mass spectrometry. Application to the in vivo measurement of phenylalanine-4-monoxygenase activity.
J.Chromatogr. 142, 523-531, 1977

A N H A N G

	Nr.	Name	Geschlecht	Alter/Jahre	Größe/cm	Gewicht/kg
<u>Versuchs- ansatz I</u>	1	J.S.	weibl.	33	168	55
	2	K.B.	männl.	30	173	70
	3	W.S.	weibl.	21	165	65
	4	D.G.	weibl.	21	162	59
	5	H.B.	männl.	23	202	87
	6	H.P.	weibl.	30	176	62
	7	J.B.	weibl.	24	175	63
	8	U.D.	männl.	22	180	82
	9	A.R.	männl.	24	184	68
	10	B.W.	weibl.	21	163	58
<u>Versuchs- ansatz II</u>	1	J.D.	weibl.	31	158	51
	2	K.D.	männl.	38	164	62
	3	M.K.	weibl.	30	164	52
	4	H.K.	männl.	30	172	71
	5	A.M.	weibl.	22	169	55
	6	H.M.	männl.	31	180	78
	7	G.U.	weibl.	26	165	62
	8	M.U.	männl.	30	168	73
<u>Versuchs- ansatz III</u>	1	U.K.	männl.	17	183	70
	2	M.B.	weibl.	22	169	60
	3	K.R.	weibl.	29	164	63
	4	W.L.	männl.	21	167	50
	5	J.K.	weibl.	20	173	64
	6	J.R.	männl.	27	183	88
	7	J.B.	weibl.	37	163	59
	8	A.B.	männl.	23	172	58
<u>Versuchs- ansatz IV</u>	1	B.W.	weibl.	22	163	58
	2	U.W.	männl.	32	178	68
	3	H.B.	männl.	43	182	97
	4	K.K.	männl.	29	174	70
	5	H.P.	weibl.	33	176	62
	6	H.H.	männl.	34	178	70
	7	C.W.	weibl.	22	162	50
	8	B.K.	weibl.	22	176	54
<u>Versuchs- ansatz V</u>	1	U.B.	weibl.	21	173	61
	2	G.P.	weibl.	26	180	66
	3	G.G.	männl.	27	184	68
	4	M.K.	weibl.	22	162	53
	5	K.B.	männl.	37	173	70

Tab. 1 Geschlecht, Alter, Grösse und Gewicht der Probanden
der Versuchsansätze I - V

Proband	Ver- suchs- ansatz	Versuch	A (mV)	B (mM)	α (min ⁻¹)	B (min ⁻¹)	C ₀ (mM)	t _{50%} (α) (min)	t _{50%} (B) (min)	k _{e1} -1 (min ⁻¹)	k ₁₂ -1 (min ⁻¹)	k ₂₁ -1 (min ⁻¹)
B.W.	I	I	0,554	0,398	0,0773	0,0085	1,052	8,97	81,08	0,0191	0,0323	0,0345
A.R.	I	I	0,786	0,325	0,0621	0,0054	1,112	11,16	128,16	0,0153	0,0303	0,0219
B.W.	I	II	0,523	0,706	0,1956	0,0072	1,229	3,54	95,81	0,0123	0,0759	0,1150
A.R.	I	II	0,446	0,563	0,0734	0,0048	1,008	9,44	143,70	0,0082	0,0269	0,0431
H.M.	II	I	1,401	0,522	0,0901	0,0064	1,922	7,70	108,90	0,0197	0,0478	0,0290
J.B.	III	I	0,789	0,241	0,0649	0,0082	1,03	10,64	84,43	0,0248	0,0268	0,0215
B.W.	IV	I	0,363	0,120	0,1196	0,0053	0,483	5,79	130,36	0,0188	0,0723	0,0338
U.W.	IV	I	0,377	0,220	0,1950	0,0086	0,597	3,56	81,04	0,0215	0,1046	0,0775
H.B.	IV	I	0,591	0,197	0,1050	0,0096	0,788	6,59	71,88	0,0302	0,0509	0,0335
K.K.	IV	I	0,309	0,155	0,1310	0,0096	0,464	5,30	72,08	0,0251	0,0653	0,0502
H.P.	IV	I	0,145	0,204	0,1400	0,0140	0,349	4,95	49,67	0,0223	0,0439	0,0878
H.H.	IV	I	0,259	0,140	0,1030	0,0058	0,399	6,72	118,65	0,0150	0,0537	0,0401
C.W.	IV	I	0,337	0,162	0,0734	0,0083	0,499	9,45	83,86	0,0206	0,0317	0,0294
B.K.	IV	I	0,741	0,159	0,0938	0,0061	0,900	7,39	113,28	0,0265	0,0518	0,0216
B.W.	IV	II	1,564	0,640	0,1070	0,0073	2,203	6,50	94,57	0,0216	0,0564	0,0361
U.W.	IV	II	0,434	0,665	0,0858	0,0078	1,100	8,07	88,59	0,0122	0,0260	0,0550
H.B.	IV	II	0,378	0,662	0,0498	0,0076	1,041	13,93	90,65	0,0110	0,0118	0,0346
K.K.	IV	II	0,438	0,582	0,0502	0,0071	1,020	18,81	97,22	0,0113	0,0144	0,0316
H.P.	IV	II	0,747	0,493	0,0677	0,0085	1,240	10,23	81,56	0,0179	0,0263	0,0323
H.H.	IV	II	0,482	0,463	0,0532	0,0058	0,946	13,03	119,81	0,0106	0,0194	0,0290
C.W.	IV	II	0,564	0,713	0,0915	0,0064	1,277	7,75	108,39	0,0109	0,0334	0,0536
B.K.	IV	II	0,305	0,426	0,0366	0,0076	0,731	18,96	91,54	0,0113	0,00837	0,0245
G.P.	V	I	0,182	0,113	0,1857	0,0070	0,294	3,73	99,01	0,0172	0,1001	0,0754
G.G.	V	I	0,050	0,110	0,1053	0,0087	0,160	6,58	79,48	0,0122	0,0267	0,0751
M.K.	V	I	0,109	0,146	0,0140	0,0056	0,235	49,47	122,71	0,0076	0,0016	0,1004
K.B.	V	I	0,081	0,225	0,0104	0,0094	0,306	66,92	73,46	0,0090	0,0007	0,1011
G.P.	V	II	0,250	0,429	0,0355	0,0054	0,679	19,51	128,24	0,0079	0,0087	0,0245
G.G.	V	II	0,288	0,258	0,0480	0,0036	0,547	14,45	194,76	0,0070	0,0200	0,0245
M.K.	V	II	0,164	0,532	0,0258	0,0073	0,695	26,85	94,75	0,0088	0,0029	0,0215
K.B.	V	II	0,049	0,385	0,0405	0,0070	0,434	17,12	99,36	0,0077	0,0195	0,0202

Tab.2 Parameter und Mikrokonstanten der Konzentrationsverläufe,
die an ein 2-Kompartiment-Modell angepasst werden konnten.

Proband	Ver- suchs- ansatz	Versuch	Summe der Abweichquadrate SSQ (ΣM)	Bestimmtheitsmaß B	Korrelations- koeffizient r
A.R.	I	I	0,107	0,990	0,995
		II	0,104	0,985	0,992
B.W.	I	I	0,083	0,993	0,996
		II	0,167	0,987	0,993
H.M.	II	I	0,153	0,995	0,997
J.B.	III	I	0,085	0,991	0,995
B.W.	IV	I	0,007	0,994	0,997
		II	0,005	0,996	0,998
U.W.	IV	I	0,019	0,987	0,993
		II	0,143	0,976	0,988
H.B.	IV	I	0,117	0,975	0,988
		II	0,045	0,995	0,997
K.K.	IV	I	0,016	0,989	0,994
		II	0,030	0,994	0,997
H.P.	IV	I	0,054	0,996	0,998
		II	0,033	0,996	0,998
H.H.	IV	I	0,008	0,993	0,996
		II	0,096	0,983	0,992
C.W.	IV	I	0,011	0,989	0,995
		II	0,040	0,995	0,997
B.K.	IV	I	0,024	0,996	0,998
		II	0,129	0,974	0,987
G.P.	V	I	0,0006	0,996	0,998
		II	0,047	0,984	0,992
G.G.	V	I	0,0009	0,994	0,997
		II	0,012	0,991	0,996
M.K.	V	I	0,004	0,988	0,994
		II	0,006	0,997	0,998
K.B.	V	I	0,001	0,989	0,995
		II	0,019	0,986	0,993

Tab. 3 Parameter für die Güte der Kurvenanpassung
an ein 2-Kompartiment-Modell

Proband	Ver- suchs- ansatz	Versuch	V_c (l)	V_{ss} (l)	ΔV_c (1/kg)	ΔV_{ss} (1/kg)
B.W.	I	I	16,71	32,27	0,29	0,56
A.R.	I	I	18,52	44,05	0,27	0,65
B.W.	I	II	14,30	23,60	0,25	0,41
A.R.	I	II	20,43	33,20	0,30	0,49
H.M.	II	I	12,29	32,40	0,16	0,42
J.B.	III	I	17,30	38,89	0,29	0,66
B.W.	IV	I	18,19	57,17	0,31	0,99
U.W.	IV	I	17,25	40,56	0,25	0,60
H.B.	IV	I	37,29	94,05	0,38	0,50
K.K.	IV	I	22,87	52,72	0,33	0,75
H.P.	IV	I	26,92	40,38	0,43	0,65
H.H.	IV	I	26,58	62,31	0,38	0,89
C.W.	IV	I	15,19	31,52	0,30	0,63
B.K.	IV	I	9,09	30,86	0,17	0,57
B.W.	IV	II	11,97	30,61	0,21	0,53
U.W.	IV	II	28,11	41,59	0,41	0,61
H.B.	IV	II	42,37	57,03	0,44	0,59
K.K.	IV	II	31,18	45,29	0,45	0,65
H.P.	IV	II	22,72	41,30	0,37	0,67
H.H.	IV	II	33,64	56,08	0,48	0,80
C.W.	IV	II	17,79	28,71	0,36	0,57
B.K.	IV	II	33,55	45,00	0,62	0,83

Tab. 4 Zentrales Verteilungsvolumen (V_c), Gesamtverteilungsvolumen im steady state (V_{ss}) sowie die auf die Körpermasse bezogenen relativen Verteilungsvolumina des Phenylalanins

Proband	Versuch	E.P. Co (mM)	RIP Co (mM)	E.P. t _{50%} (min)	RIP t _{50%} (min)	E.P. V (l)	RIP V _{ss} (l)	E.P. Cl _{tot} (ml/min)	RIP Cl _{tot} (ml/min)	E.P. Pl (μ Mol/kg)	RIP Pl (μ Mol/kg)	E.P. Tf (μ Mol/kg/min)	RIP Tf (μ Mol/kg/min)
B.W.	I	0,120	0,483	132,1	130,36	73,48	57,17	385,3	342,7	62,18	48,51	0,326	0,289
U.W.	I	0,193	0,597	95,43	81,04	53,35	40,56	387,5	371,7	37,09	28,20	0,270	0,257
H.B.	I	0,232	0,788	65,39	71,88	63,22	48,50	670,0	563,7	42,67	32,50	0,452	0,378
K.K.	I	0,169	0,464	62,77	72,08	62,70	52,72	692,3	575,2	54,85	45,75	0,605	0,501
H.P.	I	0,217	0,349	46,27	49,67	43,26	40,38	648,1	598,9	32,55	30,55	0,488	0,454
H.H.	I	0,149	0,399	110,4	118,63	71,39	62,31	448,2	399,7	46,97	40,94	0,295	0,263
C.W.	I	0,183	0,499	78,14	83,86	41,44	31,52	367,6	313,3	38,18	28,98	0,339	0,288
B.K.	I	0,171	0,900	98,19	113,28	47,78	30,86	337,3	241,3	39,15	25,08	0,276	0,197
B.W.	II	0,661	2,203	92,39	94,57	39,87	30,61	299,1	259,0	33,76	25,97	0,253	0,219
U.W.	II	0,711	1,100	82,24	88,59	43,47	41,59	366,4	342,9	30,24	28,67	0,255	0,282
H.B.	II	0,721	1,041	84,76	90,65	61,15	57,03	500,0	467,9	31,33	29,50	0,256	0,241
K.K.	II	0,721	1,020	80,50	97,22	43,29	45,29	372,7	352,1	39,76	41,60	0,342	0,322
H.P.	II	0,533	1,240	76,13	81,56	52,82	41,30	480,8	407,8	46,48	36,18	0,423	0,355
H.H.	II	0,470	0,946	119,00	119,81	67,63	56,08	393,7	356,8	52,12	43,20	0,304	0,275
G.W.	II	0,725	1,277	106,60	108,39	31,31	28,71	203,5	193,0	30,00	27,36	0,195	0,185
B.K.	II	0,484	0,731	84,10	91,54	50,67	45,00	417,5	379,6	44,36	39,01	0,365	0,330

Tab. 5 Gegenüberstellung der pharmakokinetischen Parameter der Probanden des Versuchsaussatzes IV, Versuch I und II, berechnet nach Anpassung der Kurvenverläufe an ein 1-Kompartimentmodell (Eliminationsprogramm, E.P.) und an ein 2-Kompartimentmodell (Rotierende iterative Prozedur, RIP)

Proband	Ver- suchs- ansatz	y_x (mM)	$y_o - y_x$ (mM)	k_2 (min ⁻¹)	$t_{50\%}$ (min)	ΔV (l/kg)	Cl _{tot} (ml/min)	PL (μ Mol/kg)	TF (μ Mol/kg/min)
J.S.	I	0,068	0,554	0,0067	102,80	0,55	202,7	37,40	0,253
K.B.	I	0,048	0,329	0,0065	107,00	0,92	417,6	44,12	0,285
W.S.	I	0,061	0,633	0,0083	83,21	0,48	258,9	29,27	0,244
D.G.	I	0,058	0,642	0,0099	69,98	0,50	290,2	28,91	0,286
H.B.	I	0,050	0,389	0,0087	79,97	0,78	586,8	39,15	0,339
H.P.	I	0,059	0,302	0,0086	80,61	0,80	425,2	47,39	0,407
J.B.	I	0,055	0,464	0,0091	76,34	0,65	373,3	35,58	0,323
U.D.	I	0,056	0,628	0,0085	82,00	0,48	334,2	26,91	0,227
A.R.	I	0,062	0,400	0,0061	112,80	0,83	345,2	51,15	0,314
B.W.	I	0,056	0,418	0,0088	78,14	0,72	372,9	40,54	0,359
U.K.	III	0,052	0,291	0,0073	94,78	1,04	533,2	53,7	0,393
M.B.	III	0,050	0,478	0,0091	76,06	0,63	346,6	31,88	0,290
K.R.	III	0,048	0,350	0,0047	146,3	0,86	257,8	41,39	0,196
W.L.	III	0,053	0,417	0,0091	76,28	0,73	330,3	38,79	0,352
J.K.	III	0,050	0,466	0,0091	75,84	0,65	380,0	32,30	0,295
J.R.	III	0,055	0,501	0,0078	89,43	0,60	412,4	33,33	0,258
J.B.	III	0,051	0,340	0,0108	64,46	0,89	565,4	45,94	0,494
A.B.	III	0,071	0,291	0,0079	87,31	1,04	478,3	73,64	0,585

Tab. 6

Nüchternkonzentrationen (y_x), fiktive Anfangskonzentration ($y - y_x$), Geschwindigkeitskonstante (k_2) und Halbwertszeit ($t_{50\%}$) des Konzentrationsverlaufs im Gesamtverteilungsraum (V), relatives Gesamtverteilungsvolumen (ΔV), totale Clearance (Cl_{tot}), austauschbarer pool (Pl) und Transfer (TF) der Probanden des Versuchsansatzes I und III, Versuch I.

Proband	Versuch	y_x (mM)	$y_o - y_x$ (mM)	k_2 ($\min^{-1}$)	$t_{50\%}$ (min)	ΔV (l/kg)	Cl_{tot} (ml/min)	PL ($\mu\text{Mol/kg}$)	Tf ($\mu\text{Mol/kg/min}$)
B.W.	I	0,049	0,120	0,0052	132,10	1,27	385,3	62,18	0,326
U.W.	I	0,047	0,193	0,0073	95,43	0,78	387,5	37,09	0,270
H.B.	I	0,065	0,232	0,0106	65,39	0,65	670,0	42,67	0,452
K.K.	I	0,061	0,169	0,0110	62,77	0,90	692,3	54,85	0,605
H.P.	I	0,047	0,217	0,0150	46,27	0,70	648,1	32,55	0,488
H.H.	I	0,046	0,149	0,0063	110,40	1,02	448,2	46,97	0,295
C.W.	I	0,046	0,183	0,0089	78,14	0,83	367,6	38,18	0,339
B.K.	I	0,044	0,171	0,0071	98,19	0,88	337,3	39,15	0,276
B.W.	II	0,049	0,661	0,0075	92,39	0,69	299,1	33,76	0,253
U.W.	II	0,047	0,711	0,0084	82,24	0,64	366,4	30,24	0,255
H.B.	II	0,050	0,721	0,0082	84,76	0,63	500,0	31,33	0,256
K.K.	II	0,064	0,721	0,0086	80,50	0,62	372,7	39,76	0,342
H.P.	II	0,054	0,533	0,0091	76,13	0,85	480,8	46,48	0,423
H.H.	II	0,054	0,470	0,0058	119,00	0,97	393,7	52,12	0,304
C.W.	II	0,048	0,725	0,0065	106,60	0,63	203,5	30,00	0,195
B.K.	II	0,047	0,484	0,0082	84,10	0,94	417,50	44,36	0,365

Tab. 7 Nüchternkonzentrationen sowie Werte der pharmakokinetischen Parameter der Probanden des Versuchsansatzes IV, Versuch I und II. Gleiche Bezeichnung der Parameter wie in Tab. 6

Proband	y_x (mM)	$y_0 - y_x$ (mM)	k_2 (min ⁻¹)	$t_{50\%}$ (min)	Δv (l/kg)	Cl_{tot} (ml/min)	PL (μ Mol/kg)	Tf (μ Mol/kg/min)
J.D.	0,058	0,636	0,0110	63,28	0,48	265,80	27,66	0,303
K.D.	0,073	0,322	0,0051	136,31	0,94	296,90	68,48	0,348
M.K.	0,079	0,478	0,0070	99,50	0,63	232,00	50,37	0,351
H.K.	0,049	0,318	0,0069	99,76	0,95	469,70	46,74	0,325
A.M.	0,073	0,586	0,0064	108,64	0,52	181,30	37,58	0,240
H.M.	0,067	0,480	0,0055	125,32	0,63	272,10	42,06	0,232
G.U.	0,055	0,708	0,0081	85,12	0,43	217,70	23,31	0,190
M.U.	0,065	0,634	0,0058	120,21	0,48	201,20	31,28	0,180

Tab. 8 Nüchternkonzentrationen sowie Werte der pharmakokinetischen Parameter der Probanden des Versuchsansatzes II, Versuch I. Gleiche Bezeichnung der Parameter wie in Tab. 6

Proband	Y_x (mM)	Y_x' (mM)	$Y_o - Y_x'$ (mM)	v ($\mu\text{Mol/min}$)	k_2 (min^{-1})	$t_{50\%}$ (min)	V (l/kg)	Cl_{tot} ml/min	Pl ($\mu\text{Mol/kg}$)	Tf ($\mu\text{Mol/kg/min}$)
U.K.	0,062	0,471	0,325	155,76	0,0050	139,24	0,94	330,7	58,28	0,293
M.B.	0,047	0,333	0,228	106,06	0,0068	102,52	0,78	318,5	36,69	0,249
K.R.	0,054	0,378	0,272	86,67	0,0081	85,15	0,45	229,3	24,26	0,196
W.L.	0,057	0,421	0,324	101,82	0,0077	90,26	0,63	241,8	35,80	0,276
J.K.	0,039	0,430	0,284	138,18	0,0071	97,74	0,71	321,3	27,58	0,196
J.R.	0,051	0,401	0,258	135,15	0,0057	121,05	0,67	337,0	34,26	0,195
J.B.	0,051	0,474	0,479	194,54	0,0089	77,62	0,78	410,4	39,86	0,355
A.B.	0,056	0,533	0,364	153,33	0,0073	94,91	0,68	287,7	38,05	0,278

Tab. 9 Nüchternkonzentrationen, künstlich erhöhte Phenylalanin-Gleichgewichtskonzentration (Y_x'), Infusionsgeschwindigkeit (v) und pharmakokinetische Parameter der Probanden des Versuchansatzes III, Versuch II. Gleiche Bezeichnung wie in Tab. 6

Proband	y_x (mM)	y_x' (mM)	$y_o - y_x'$ (mM)	k_2 (min ⁻¹)	$t_{50\%}$ (min)	Δy (l/kg)	Cl _{tot} (ml/min)	PL (μ Mol/kg)	T _f (μ Mol/kg/min)
J.S.	0,062	0,497	0,711	0,0035	198,44	0,43	81,88	26,66	0,093
K.B.	0,065	0,333	0,879	0,0086	80,30	0,34	208,10	22,10	0,190
W.S.	0,062	0,364	0,561	0,0031	220,82	0,54	110,30	33,48	0,104
D.G.	0,052	0,301	0,497	0,0049	140,03	0,61	178,20	31,72	0,155
H.B.	0,056	0,424	0,509	0,0041	170,43	0,59	210,60	33,04	0,135
H.P.	0,062	0,612	0,556	0,0034	202,79	0,54	115,30	33,48	0,114
J.B.	0,058	0,424	0,672	0,0051	134,91	0,45	145,80	26,10	0,133
U.D.	0,058	0,332	0,763	0,0043	161,31	0,41	145,00	23,78	0,102
A.R.	0,061	0,592	0,592	0,0052	133,10	0,51	181,30	23,15	0,120
B.W.	0,064	0,462	0,730	0,0077	90,47	0,41	184,2	19,15	0,147

Tab. 10. Nüchternkonzentrationen, künstlich erhöhte Gleichgewichtskonzentrationen (y_x') und pharmakokinetische Parameter der Probanden des Versuchsansatzes I, Versuch II. Gleiche Bezeichnung der Parameter wie in Tab. 6

Proband	y_x (mM)	y_x' (mM)	$y_o' - y_x'$ (mM)	k_2 (min ⁻¹)	$t_{50\%}$ (min)	ΔV (l/kg)	Cl_{tot} (ml/min)	PL (μ Mol/kg)	Tr (μ Mol/kg/min)
J.D.	0,057	0,424	0,665	0,0036	193,83	0,45	83,06	25,56	0,092
K.D.	0,090	0,576	0,571	0,0037	186,83	0,53	122,00	47,70	0,176
M.K.	0,090	0,596	0,701	0,0015	444,89	0,43	35,35	31,50	0,047
H.K.	0,062	0,588	0,495	0,0021	335,78	0,61	89,77	37,98	0,080
A.M.	0,061	0,485	0,641	0,0026	270,44	0,47	66,60	28,67	0,074
H.M.	0,073	0,602	0,653	0,0028	247,56	0,47	101,33	34,31	0,096
G.U.	0,072	0,515	0,530	0,0015	459,95	0,57	53,46	41,04	0,062
M.U.	0,071	0,503	0,681	0,0026	266,90	0,44	84,28	31,24	0,081

Tab. 11 Nüchternkonzentrationen, künstlich erhöhte Gleichgewichtskonzentrationen (y_x') und pharmakokinetische Parameter der Probanden des Versuchs II des Versuchsansatzes II.
Gleiche Bezeichnung der Parameter wie in Tab. 6

Proband	Versuch	y_x (mM)	y_x' (mM)	v (mMol/min)	$y_0 - y_x'$ (μ Mol/ml)	β (min ⁻¹)	$t_{50\%}$ (min)	Cl_{tot} (ml/min)	Tf (μ Mol/kg/min)
G.P.	I	0,081	0,153	0,076	0,294	0,0070	99,01	495,16	0,608
	II	0,071	0,613	0,152	0,679	0,0054	128,24	247,18	0,266
G.G.	I	0,084	0,148	0,076	0,160	0,0087	79,48	511,89	0,632
	II	0,086	0,461	0,152	0,547	0,0036	194,76	328,68	0,416
M.K.	I	0,087	0,219	0,076	0,255	0,0056	122,71	345,94	0,568
	II	0,077	0,565	0,152	0,695	0,0071	94,75	268,18	0,390
K.B.	I	0,091	0,168	0,076	0,306	0,0094	73,46	450,95	0,586
	II	0,091	0,404	0,152	0,434	0,0070	99,36	375,05	0,488

Tab. 12 Nüchternkonzentrationen, Infusionsgeschwindigkeiten v , künstlich erhöhte Gleichgewichtskonzentrationen und pharmakokinetische Parameter der Probanden des Versuchsansatzes V, Versuch I und II

Gleiche Beziehung der Parameter wie in Tab. 6

Proband	Versuch	D (mMol)	k_i (min ⁻¹)	v (mMol/min)	"K _m " (mMol)	v _{Max} (mMol/min)
G.P.	I	9,091	0,0120	0,109	116,59	1,509
	II	18,182	0,0112	0,204		
G.G.	I	9,091	0,0107	0,097	124,97	1,436
	II	18,182	0,0100	0,182		
M.K.	I	9,091	0,0112	0,102	106,41	1,298
	II	18,182	0,0104	0,196		
K.B.	I	9,091	0,0108	0,098	132,97	1,536
	II	18,182	0,0102	0,185		

Tab. 13: Initiale Eliminationskonstante (k_i),
 initiale Eliminationsgeschwindigkeit
 (v), halbmaximale Phenylalaninmenge ("K_m")
 und maximale Eliminationsgeschwindigkeit
 (v_{Max}) bei vier Normalpersonen, ermittelt
 aus zwei verschiedenen Phenylalanininfu-
 sionen (D) (Versuch I und Versuch II).

Proband	Versuch	infundierte Phenyl- alaninmenge in 6 Std (mM)	Phenylalaninausscheidung im Urin						
			(mM)	vor Infusion		unter Infusion (6 Std) (mM) $\frac{\mu\text{Mol}/\text{Zeit}}{\mu\text{Mol}/\text{Std}}$	nach Infusion (3 Std) (mM) $\frac{\mu\text{Mol}/\text{Zeit}}{\mu\text{Mol}/\text{Std}}$	gesamt in % der gegeb. Menge	gesamt in % der gegeb. Menge
				$\frac{\mu\text{Mol}/\text{Sam-}}{\text{Zeitraum}}$	$\frac{\mu\text{Mol}/\text{Std}}{\text{Belastung}}$				
U.E.	I	27,273	0,02	0,90/3Std	0,3	0,083	0,081	3,647	49,62
	II	81,818	0,02	1,50/4Std	0,375	0,607	0,780	20,80	229,33
G.P.	I	27,273	0,019	4,29/3Std	1,43	0,075	0,105	3,50	49,50
	II	54,546	0,003	1,05/3Std	0,35	0,224	0,680	11,333	124,27
G.G.	I	27,273	0,017	0,44/45'	0,587	0,068	0,054	2,25	28,85
	II	54,546	0,006	1,89/2Std	0,945	0,057	0,059	6,197	76,45
M.K.	I	27,273	0,005	1,60/3Std	0,533	0,169	0,180	5,82	81,34
	II	54,546	0,008	2,75/3Std	0,917	0,113	0,117	8,24	67,88
K.B.	I	27,273	0,023	8,40/3Std	2,80	0,048	0,083	5,81	62,65
	II	54,546	0,025	1,075/1Std	1,075	0,278	0,249	11,123	136,23

Tab. 14 Phenylalaninausscheidung im Urin bei den Probanden des Versuchsansatzes V, Versuch I und II vor Beginn der Infusion, während der Infusion und im Anschluss daran.

An dieser Stelle danke ich Herrn Norbert Kalle und Frau Ursula Berg für ihre hilfreiche Unterstützung bei der chromatografischen Phenylalaninbestimmung in den Plasma- und Urinproben und bei der Durchführung der mathematischen Berechnungen. Dank schulde ich auch den Probanden für ihre Bereitschaft, sich für die Versuche zur Verfügung zu stellen sowie Frau Charlotte Walter und Frau Ute Gross für die Niederschrift der Arbeit.

